

DISEÑO DE UN BIORREACTOR PARA LA OBTENCION DE QUITOSAN

Javier Guilera Rovira

Tutor: Jordi Bou



Escola Tècnica Superior d'Enginyers Industrials de Barcelona
Grado en Ingeniería Química

Resumen

La sociedad tecnológica se halla en una encrucijada; el uso de los derivados del petróleo es perjudicial, no solo, a nivel ambiental, sino que, encima están agotando nuestros recursos a un ritmo vertiginoso. Por estos motivos, se decide buscar alternativas limpias y sostenibles como la química sostenible y las biorefinerías, cuyo principal objetivo es el de obtener productos químicos y nuevos materiales de forma sostenible y minimizando la contaminación.

Como sustituto principal a los clásicos polímeros se obtienen los biopolímeros; materiales poliméricos de origen natural a partir de los cuales se pueden obtener plásticos, fibras, elastómeros y demás productos de interés industrial. El más conocido es la celulosa.

Otro ámbito con mucho interés es la fermentación de hongos para la obtención de productos químicos. En este caso, el objetivo del proyecto es el de diseñar un biorreactor para una planta piloto capaz de producir, a partir de la fermentación de la especie *Mucor rouxii*, una cantidad de 50 kg anuales de quitosán. En este proyecto se ha llevado a cabo un proceso cuyo tiempo de fermentación es de 24h y la producción obtenida en este periodo de tiempo es de 0,4 g/l.

El proceso de obtención de quitosán a partir de la quitina que contienen los hongos en el micelio se lleva a cabo mediante tres pasos:

- La desproteinización.
- La desmineralización.
- La desacetilación.

Posteriormente, se centrifuga y se limpia después de aplicar ciertos productos para lograr un pH apropiado para la precipitación del producto.

El biorreactor seleccionado para este proyecto es de tipo BATCH, es decir, un reactor de tanque agitado discontinuo. El material utilizado para su fabricación es el Acero inoxidable AC316L. El dispositivo incorpora un sistema de agitación novedoso con una guía helicoidal y un sistema de aireación precalentado, que cede su calor mediante un intercambiador de dos tubos concéntricos, para una mejor fermentación. Las dimensiones del tanque son de 2,10 x 0,88 m pero 80cm de altura corresponden a las 5 patas de soporte. A partir de los cálculos realizados en el trabajo con las medidas adecuadas se obtiene un volumen de 625 L de sustrato y por tanto el volumen real se considera de 800 L.

El programa utilizado para el diseño del biorreactor es FreeCAD; Un software de programación libre que se está dando a conocer poco a poco en el mundo del diseño y que se puede comparar con los grandes programas privados más utilizados como sería por ejemplo Solidworks. Ciertamente FreeCAD no tiene nada que envidiarle a la mayoría de programas de diseño actuales pero al tratarse de un programa que depende del conocimiento de las personas y de lo que estas se involucren en su desarrollo hay ciertas formas de trabajo a las que estamos acostumbrados que aún no se han implementado en este.

Para controlar las condiciones de operación del fermentador se utilizaran sondas para la temperatura y el pH. La temperatura se mantendrá a 30°C mediante un intercambiador de dos tubos concéntricos.

El coste final del biorreactor es de 24.728 €.



INDICE

| | |
|--|----|
| Resumen..... | 1 |
| Introducción | 4 |
| 1. Motivación | 4 |
| 2. Objetivos | 5 |
| 2.1 Objetivos específicos..... | 5 |
| 3. Química sostenible | 6 |
| 3.1 Los 12 Principios de la Química sostenible | 6 |
| 3.2 Uso Integral de la Lignocelulosa como Materia Prima en Bioprocesos | 9 |
| 3.3 Búsqueda de Nuevas Celulasas más Eficientes | 9 |
| 3.4 Controversia sobre las biorrefinerías | 10 |
| 3.5 Bioplásticos y biopolímeros..... | 10 |
| 3.6 La celulosa | 11 |
| 4. Hongos microscópicos..... | 14 |
| 4.1 Quitosán fúngico | 16 |
| 4.2 Características de la pared celular fúngica..... | 16 |
| 4.3 Principales fuentes fúngicas de quitosán..... | 17 |
| 4.4 Tipos de fermentación | 18 |
| 5. El quitosán | 20 |
| 5.1 ¿Qué es el quitosán? | 20 |
| 5.2 La quitina y el quitosán | 20 |
| 5.3 Caracterización físico-química del quitosán..... | 21 |
| 5.4 ¿Para qué sirve el Quitosán? | 22 |
| 5.5 Preparación y síntesis industrial..... | 24 |
| 6. Estado del arte de la producción de quitosán..... | 25 |
| 6.1 Primer artículo..... | 25 |
| 6.2 Segundo artículo | 25 |
| 6.3 Tercer artículo | 26 |
| 6.4 Cuarto artículo..... | 26 |
| 6.5 Quinto artículo | 27 |
| 6.6 Sexto artículo..... | 29 |
| 6.7 Conclusiones..... | 29 |
| 7. Biorreactor | 30 |
| 7.1 Tipos de biorreactores | 31 |

| | |
|--|----|
| 7.2 Parámetros cinéticos..... | 33 |
| 7.3 Temperatura..... | 36 |
| 7.4 PH | 36 |
| 7.5 Agitación..... | 37 |
| 7.6 Criterios iniciales de diseño de un biorreactor | 38 |
| 7.7 Tipos de biorreactores | 38 |
| 7.8 Escalado..... | 39 |
| 8. Diseño teórico del biorreactor | 40 |
| 8.1 Suministro de oxígeno..... | 40 |
| 8.2 Temperatura..... | 40 |
| 8.3 PH | 41 |
| 8.4 Cultivo y esterilización..... | 41 |
| 8.5 Producción estimada y cálculos correspondientes | 41 |
| 8.6 Volumen del fermentador requerido para la producción estimada..... | 42 |
| 8.7 Intercambiador de calor | 43 |
| 8.8 Aireación | 48 |
| 8.9 Sistema de agitación | 49 |
| 9. Diseño del fermentador | 52 |
| 9.1 Partes esenciales del fermentador..... | 52 |
| 10. Estudio económico | 68 |
| 11. Seguridad..... | 70 |
| 12. Estudio del impacto ambiental | 71 |
| 13. Planning organizativo del trabajo | 72 |
| Conclusiones | 73 |
| Agradecimientos | 74 |
| Bibliografía conceptual..... | 75 |
| Bibliografía de imágenes | 77 |

Introducción

1. Motivación

Este trabajo es principalmente un trabajo de diseño, en el cual se diseñará un biorreactor para obtener quitosán. El método de obtención del producto será la fermentación de un hongo. En este caso el hongo escogido es el *Mucor rouxii* debido a su buen rendimiento.

Para realizar esta investigación, se diseñará un biorreactor con todas las condiciones operativas necesarias para poder producir quitosán a nivel de planta piloto. Para ello se hacen, a continuación, unas breves explicaciones de ciertos temas que creo que son relevantes para poder comprender con mayor facilidad los conceptos que engloban el diseño de un reactor de este tipo.

La verdadera motivación de este trabajo se basa en la innovación a nivel mundial de una alternativa viable que nos permita, mediante procesos biológicos como puede ser la fermentación de hongos, desarrollar una nueva base de creación de bioproductos que pueda competir con el actual modelo de mercado de la refinería petrolífera.

Primeramente, me gustaría comentar el concepto de química sostenible; la química sostenible o también conocida como química verde consiste en una filosofía química dirigida hacia el diseño de productos y procesos químicos que implica la reducción o eliminación de productos químicos (para los materiales, las personas y el medio ambiente).

2. Objetivos

El objetivo principal de este proyecto es el de diseñar un biorreactor tipo BATCH que permita conseguir una producción anual de 50 kg de quitosán a partir de la fermentación de la especie *Mucor rouxii*.

2.1 Objetivos específicos

- ❖ Seleccionar la especie adecuada para la fermentación.
- ❖ Seleccionar el tipo de fermentador
- ❖ Presentar un diseño del fermentador
- ❖ Determinar el volumen del fermentador
- ❖ Determinar la agitación necesaria
- ❖ Determinar los sistemas de control
- ❖ Determinar las medidas de seguridad

3. Química sostenible

Los productos químicos por antonomasia utilizados para proveernos de gasolinas y demás combustibles son por ahora los recursos fósiles pero con el concepto de química verde atribuido a Paul Anastas en 1998, debido a la descripción de procesos y productos que reducen el impacto ambiental, previenen la contaminación y además respeten tanto al medio ambiente como al ser humano, se introducen en este mundo las biorrefinerías cuyo objetivo se basa en conseguir distintos tipos de biocombustibles a partir de todo tipo de biomasa.

3.1 Los 12 Principios de la Química sostenible

1. Prevención: Es mejor prevenir desde el principio en cualquier proceso la generación de residuos, que eliminarlos una vez que se han creado.

2. Economía Atómica: El concepto de economía atómica fue introducido, en 1991, por B.M. Trost, como una medida de la eficiencia de una reacción. La idea se basa en el diseño de métodos sintéticos en los que la incorporación al producto final de todos los materiales usados en la síntesis sea la mayor posible, haciendo que los pasos necesarios para la obtención de una sustancia sean lo más selectivos y se minimice la formación de subproductos, y por tanto de residuos.

3. Uso de tecnologías más seguras: Siempre que sea posible, los métodos de síntesis deberán diseñarse para utilizar y generar sustancias que tengan poca o ninguna toxicidad, tanto para el hombre como para el medio ambiente.

4. Diseño de productos químicos más seguros: Los productos químicos se deben diseñar para efectuar la función deseada reduciendo al mínimo su toxicidad.

5. Uso de disolventes y productos auxiliares más seguros: El uso de las sustancias auxiliares por ejemplo disolventes, agentes de separación, grupos protectores etc. se debe reducir e incluso, si es posible, eliminar. En caso de ser necesarios deben ser lo menos agresivos con el medio ambiente.

6. Eficiencia energética: Los requerimientos energéticos deben clasificarse por su impacto medioambiental y económico, reduciéndose todo lo posible la incidencia en el medio ambiente y los costos de producción. Se intentará llevar a cabo los métodos de síntesis a temperatura ambiente y presión atmosférica.

7. Uso de materias primas renovables: Las materias primas deben ser preferentemente renovables en lugar de no renovables siempre que desde el punto de vista técnico y económico sea posible.[1]

8. Reducción de derivados: La derivatización innecesaria debe ser reducida al mínimo o si es posible, evitada porque la formación de derivados requiere reactivos y disolventes adicionales, por lo que se generan más residuos

9. Catálisis: Es preferible potenciar el uso de catalizadores lo más selectivos posibles frente al empleo de reactivos en cantidades estequiométricas.

10. Degradación controlada: Los productos químicos se deben diseñar de modo que en el final de su vida útil no persistan en el medio ambiente y se degraden de forma controlada.

11. Análisis en tiempo real para la prevención de la contaminación: Se desarrollarán al máximo los procedimientos y metodologías analíticas que permitan monitorizar y controlar en tiempo real la formación de sustancias potencialmente peligrosas.

12. Reducción del potencial de accidentes químicos: Se elegirán las sustancias para la realización de los procesos químicos de forma que se minimicen los riesgos de accidentes.

Esta rama de la biotecnología se dedica a la producción industrial de productos químicos mediante procesos biológicos. Esto no es algo completamente nuevo, el vino y la cerveza se producen desde hace años y ambos son procesos fermentativos llevados a cabo por microorganismos. También algunos antibióticos se producen mediante procesos biotecnológicos. Pero ahora la cosa va más allá, se trata de producir a gran escala tanto combustibles como productos químicos destinados a gran consumo y otros compuestos a los que se les denomina “building blocks”; es decir, compuestos que sirven como precursores de una inmensa variedad de productos químicos. A todos estos productos obtenidos mediante procesos biológicos se les denomina genéricamente bioproductos.

Para que os hagáis una idea de la dimensión de este asunto, informes recientes estiman en más de 100 millones de dólares el actual mercado de consumo mundial de productos químicos. Alrededor del 3% se derivan, ya sea de materias primas de origen biológico, de procesos de fermentación, de conversión enzimática o una combinación de ellos. Se prevé que la cuota de productos químicos bioderivados crecerá hasta situarse cerca de 15% de las ventas mundiales para el año 2025.

Hay varios motivos que impulsan el interés por los bioproductos y su crecimiento en el mercado:

- ❖ La posibilidad de disponer de tecnologías eficientes de bajo coste: por ejemplo para la producción de nuevos precursores químicos o para mejorar los procesos existentes.
- ❖ La sostenibilidad a largo plazo de la fabricación de productos químicos.
- ❖ La inestabilidad de los precios de las materias primas fósiles (sólo tenemos que fijarnos en las fluctuaciones del precio del petróleo).
- ❖ La disminución de la huella de carbono en el medio ambiente.
- ❖ El interés de los consumidores y de las políticas públicas en los productos “verdes”.

Muchas de las grandes empresas químicas y biotecnológicas ya establecidas (DuPont, Dow Chemicals, Nature Works), así como pequeñas empresas emergentes y “venture companies” están activamente involucradas en el desarrollo y comercialización de bioproductos a partir de una gran variedad de fuentes de biomasa renovable. Estas empresas están tratando de seguir un modelo de biorrefinería, similar a las refinerías petroquímicas actuales para co-producir grandes cantidades de combustibles de gran consumo y productos químicos de alto valor añadido. Hay varios modelos de biorrefinería en desarrollo, la mayoría de los cuales difieren según la fuente de biomasa. Para entenderlo un poco mejor veamos un ejemplo de biorrefinería.

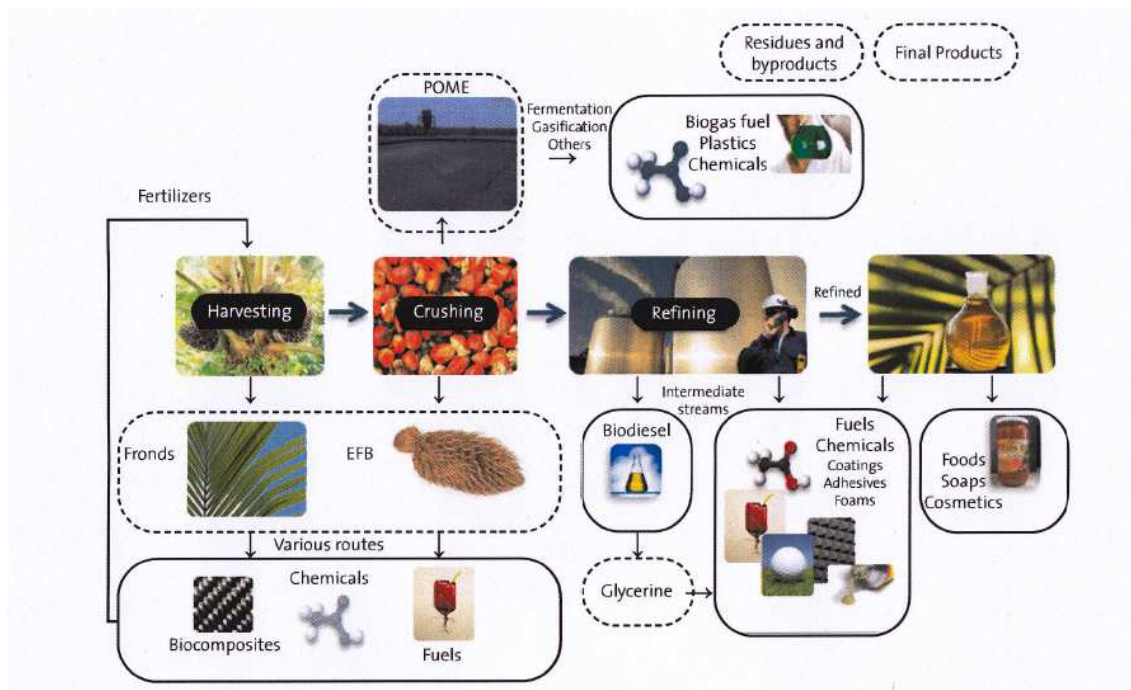


Figura 1 Proceso de una biorrefinería [1]

El concepto de la biorrefinería basada, por ejemplo, en la plantación de palma (y otros como el de maíz húmedo triturado, la caña de azúcar o la soja) es bastante sencillo y similar a las refinerías de petróleo convencionales.

La biomasa se convierte en combustibles (biodiesel de aceite de palma y bioetanol de lignocelulosa contenida en la materia prima, en este caso frutos vacíos, hojas, etc que son los residuos del procesamiento del aceite de palma) y productos químicos de valor añadido. En una plantación de palma típica, además del aceite y las fuentes de biomasa lignocelulósica, existen otras materias primas como el efluente producido de la trituración para la obtención del aceite de palma (palm oil mill effluent: POME) que se utiliza para la obtención de otros productos químicos de alto valor y biogás. En el caso del residuo de procesamiento de maíz y de la plantación de caña de azúcar, la biomasa se convierte en combustible (principalmente etanol) y en productos químicos tales como polioles, ácidos y otros.

3.2 Uso Integral de la Lignocelulosa como Materia Prima en Bioprocesos

La tecnología de hidrólisis de la biomasa lignocelulósica implica la degradación de los carbohidratos en los azúcares que los componen por medio de diversos procesos físicos, químicos y/o biológicos. La biomasa debe ser sometida en primer lugar a un pretratamiento para separar la lignina, solubilizar las hemicelulosas y exponer la celulosa para la posterior degradación enzimática. La celulosa sufre entonces una hidrólisis enzimática para producir glucosa, que puede ser convertida en biocombustibles y productos químicos mediante fermentación. La lignina queda, en este proceso, como un subproducto o residuo infrautilizado, cuya valorización es todavía un reto importante.

Alternativamente, la biomasa puede ser también procesada mediante tecnologías de gasificación, obteniéndose así el denominado gas de síntesis o syngas, constituido por una mezcla de H_2 , CO y CO_2 . Este gas puede ser posteriormente convertido en una amplia gama de productos químicos mediante procedimientos químicos o biológicos. En este caso la biomasa es utilizada en su totalidad.

3.3 Búsqueda de Nuevas Celulasas más Eficientes

Las enzimas responsables de catalizar la hidrólisis de la celulosa, la principal fracción que forma parte de la biomasa lignocelulósica, son las celulasas. Sin embargo, por su estructura, la celulosa es muy resistente a la degradación. En la actualidad se encuentran comercialmente disponibles preparaciones enzimáticas de celulasas para diversas aplicaciones, si bien no están optimizadas para realizar una hidrólisis extensiva de la celulosa para su uso en la generación de azúcares fermentables. Por todo ello, la hidrólisis enzimática del material lignocelulósico requiere elevadas dosis de enzima, lo que unido a que su disponibilidad no es lo suficientemente elevada, supone que el coste de las celulasas tenga un gran impacto económico en los bioprocesos que utilizan este tipo de biomasa.

Se hace necesaria, por tanto, la búsqueda de nuevas celulasas con unas mejores propiedades catalíticas a las ya disponibles, procedentes de nuevos microorganismos, con preferencia para los microorganismos extremófilos, sobre todo termófilos, que puedan aportar nuevas potencialidades y características. La metagenómica es una herramienta que puede ser muy útil en este sentido.[2]

3.4 Controversia sobre las biorrefinerías

Una diferencia importante entre una biorrefinería y una refinería de petróleo es que la materia prima utilizada en una biorrefinería es un producto alimenticio, que puede ir destinado o a consumo humano o a consumo animal. Esta es una consideración importante y un reto que ha creado un serio debate en cuanto a la sostenibilidad de los combustibles de primera generación.

Las tecnologías que se encuentran en desarrollo se centran en el mantenimiento de las biorrefinerías con productos que no están destinados a alimentos y piensos. Para abordar este problema de manera más directa, la tendencia es el desarrollo de cultivos no alimentarios, tales como jatrofa, sorgo, algas, la utilización de otras materias primas residuales como melazas de remolacha, suero lácteo, residuos de procesados de frutas o subproductos de la producción de biodiesel como la glicerina de baja pureza.

De esta manera se conseguiría un doble objetivo: la producción de biocombustibles y productos químicos de gran consumo a partir de materias primas renovables y la revalorización de residuos procedentes de otros procesos, favoreciendo así la sostenibilidad económica de ambas producciones.[3]

3.5 Bioplásticos y biopolímeros

La definición de bioplásticos incluye cualquiera de los dos criterios básicos siguientes: su procedencia de materias primas renovables (biomasa) y/o su biodegradabilidad. Puede haber bioplásticos que procedan de biomasa y no ser biodegradables y, al contrario, bioplásticos derivados del petróleo que sean biodegradables; motivo por el que se vuelve de vital importancia el distinguirlos correctamente por cuestiones de coherencia.

La Biotecnología Industrial puede intervenir en la producción de bioplásticos de dos modos:

1. Proporcionando los monómeros requeridos para la síntesis de los bioplásticos, cuya polimerización es llevada a cabo posteriormente mediante tecnologías de tipo químico. Los monómeros polimerizables pueden ser obtenidos por medios biotecnológicos (fermentación) bien directamente o bien en forma de precursores que necesiten una posterior transformación química sencilla para su utilización. Dentro de este grupo se encontrarían los ácidos láctico, succínico, adípico, 3-hidroxipropiónico, y el 1,3-propanodiol.
2. El otro modo en que la biotecnología industrial puede intervenir en la producción de bioplásticos consiste en la síntesis integral de los mismos, desde una materia prima renovable hasta el biopolímero final, mediante procedimientos biotecnológicos, fundamentalmente por fermentación microbiana. A este grupo pertenecen, por ejemplo, los polihidroxialcanoatos (PHAs) y el ácido poliglutámico.[2]

3.6 La celulosa

Es un polisacárido formado exclusivamente de moléculas de glucosa; es pues un homopolisacárido (compuesto por un solo tipo de monosacárido); es rígido, insoluble en agua, y contiene desde varios cientos hasta varios miles de unidades de β -glucosa. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre, se encuentra en las paredes de las células de las plantas. Químicamente se considera como un polímero natural, formado por un gran número de unidades de glucosa ($C_6H_{10}O_5$), cuyo peso molecular oscila entre varios cientos de miles.

3.6.1 Historia y aplicaciones

La celulosa es la sustancia que más frecuentemente se encuentra en la pared de las células vegetales, y fue descubierta en 1838. La celulosa constituye la materia prima del papel y de los tejidos de fibras naturales. También se utiliza en la fabricación de explosivos (el más conocido es la nitrocelulosa o "pólvora para armas"), celuloide, seda artificial, barnices y se utiliza como aislamiento térmico y acústico, como producto derivado del papel reciclado triturado.

3.6.2 Estructura de la celulosa

La celulosa se forma por la unión de moléculas de β -glucopiranosas mediante enlaces β -1,4-O-glucosídicos. Por hidrólisis de glucosa. La celulosa es una larga cadena polimérica de peso molecular variable, con fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$, con un valor mínimo de $n = 200$.

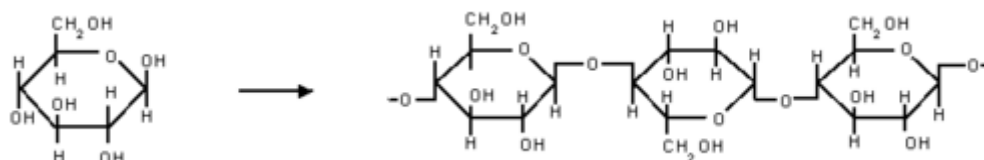


Figura 2 Estructura de la celulosa; a la izquierda, β -glucosa; a la derecha, varias β -glucosas unidas. [2]

La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas impenetrables al agua, lo que hace que sea insoluble en agua, y originando fibras compactas que constituyen la pared celular de las células vegetales.

3.6.3 Función de la celulosa

La celulosa es un polisacárido estructural en las plantas ya que forma parte de los tejidos de sostén. La pared de una célula vegetal joven contiene aproximadamente un 40% de celulosa; la madera un 50 %, mientras que el ejemplo más puro de celulosa es el algodón con un porcentaje mayor al 90%. A pesar de que está formada por glucosas, los animales no pueden utilizar la celulosa como fuente de energía, ya que no cuentan con la enzima necesaria para romper los enlaces β -1,4-glucosídicos, es decir, no es digerible por los animales; sin embargo, es importante incluirla en la dieta humana (fibra dietética) porque al mezclarse con las heces, facilita la digestión y defecación, así como previene los malos gases. En el aparato digestivo de los rumiantes (pre-estómagos), de otros herbívoros y de termitas, existen microorganismos, muchos metanógenos, que poseen una enzima llamada celulasa que rompe el enlace β -1,4-glucosídico y al hidrolizarse la molécula de celulosa quedan disponibles las glucosas como fuente de energía. Hay microorganismos (bacterias y hongos) que viven libres y también son capaces de hidrolizar la celulosa. Tienen una gran importancia ecológica, pues reciclan materiales celulósicos como papel, cartón y madera. De entre ellos, es de destacar el hongo *Trichoderma reesei*, capaz de producir cuatro tipos de celulasas: las 1,4- β -D-glucancelobiohirolasas CBH I y CBH II y las endo-1,4- β -D-glucanasa EG I y EG II. Mediante técnicas biotecnológicas se producen esas enzimas que pueden usarse en el reciclado de papel, disminuyendo el coste económico y la contaminación.

3.6.4 Celulosa Química

Se obtiene a partir de un proceso de cocción química de la madera a altas temperaturas y presiones, cuyo objetivo es disolver la lignina contenida en la madera con una disolución alcalina, liberando las fibras. Dependiendo de los aditivos químicos usados en la cocción, existen celulosas químicas kraft y al sulfito, siendo la primera más utilizada a nivel mundial. La celulosa química se caracteriza por tener un rendimiento total relativamente bajo, es decir, sólo entre un 40% y un 60% del material original (madera) queda en el producto final (fibras), el resto (lignina), se disuelve en la solución alcalina para ser posteriormente quemada y generar la energía térmica y eléctrica necesaria en los procesos productivos. Estas celulosas son más resistentes, ya que las fibras quedan intactas, son más fáciles de blanquear y menos propensas a perder sus cualidades en el tiempo.

3.6.5 Celulosa Mecánica

Se obtiene a partir de un proceso por el cual la madera es molida y triturada mecánicamente, siendo sometida a altas temperaturas y presiones. Posteriormente la pasta es clasificada, lavada y eventualmente blanqueada. Este proceso requiere un alto consumo energético. La celulosa mecánica, se caracteriza por tener un alto rendimiento, normalmente entre un 85% y 95%, pero la lignina remanente en el producto puede oxidarse generando el color amarillo que caracteriza a los diarios viejos. Las principales aplicaciones son la fabricación de papel para periódicos y

papeles para impresión y escritura de menor calidad. Esta celulosa es menos resistente que la química, no por la presencia de esta lignina sino porque las fibras que en ella están contenidas han sido cortadas en el proceso de fabricación. Para que nos hagamos una idea de la producción a nivel mundial en 1998 (175 millones de toneladas) un 76% correspondieron a celulosas químicas y sólo un 24% a celulosas mecánicas.

Otra forma de clasificar la celulosa es a partir de la materia prima usada para su fabricación. Dependiendo de ella existen celulosas de fibra larga (softwood pulp) y celulosas de fibra corta (hardwood pulp). Difieren principalmente en su resistencia, ya que ésta depende básicamente de las uniones moleculares que se establecen entre las fibras. La celulosa de fibra larga genera en los papeles una red de uniones más resistentes que las de fibra corta. La longitud de las fibras largas fluctúa entre 2,5 y 4,5 mm, contra los 0,7 a 1,8 mm de las fibras cortas.

Para seguir adentrándonos en este pequeño trabajo ahora se expone una breve sinopsis sobre los hongos microscópicos;

4. Hongos microscópicos

El heterogéneo reino de los hongos agrupa a distintos organismos eucariotas, con pared celular rígida formada por quitina y otros compuestos, pero sin celulosa, heterótrofos y con digestión externa que realizan mediante enzimas secretadas al medio. Tras esta digestión absorben los nutrientes.

Su ecología es muy diversa. Aunque hay representantes acuáticos, principalmente son terrestres. En función de cómo consiguen la materia orgánica que necesitan, encontramos:

- **Hongos parásitos:** Tanto de plantas como de animales causando enfermedades conocidas como micosis. Ejemplo son las tiñas, royas, el cornezuelo, pie de atleta, candidiasis, etc...
- **Hongos saprofitos:** Ocupan en los ecosistemas el nivel trófico de los descomponedores, siendo responsables de la mineralización de los bioelementos.
- **Hongos simbióticos:** Con las algas formando los líquenes, o con raíces de plantas en las micorrizas.

En los hongos pluricelulares las células se disponen linealmente formando unos filamentos o hifas. Las hifas pueden formar un entramado conocido como micelio, que en los hongos macroscópicos se hace observable formando el cuerpo fructífero o seta.

Se reproducen por esporas, que pueden ser asexuales, formadas en el extremo de hifas especiales o conidios, o sexuales, con dos tipos, internas (ascosporas) y externas (basidiosporas). Según este criterio taxonómico se originan dos grupos de hongos, los Ascomycetos y los Basidiomycetos.[4][5]

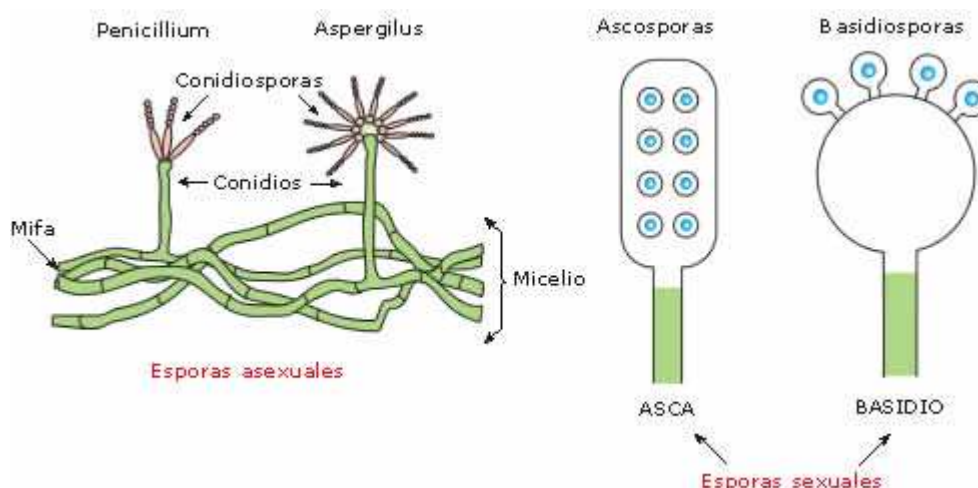


Figura 3 Esquema tipos de hongos [3]

Los principales hongos microscópicos son las levaduras y los mohos, grupos que no tienen valor taxonómico.

- **Levaduras:** Son hongos unicelulares que se reproducen asexualmente por gemación. Pertenecen al grupo de los ascomicetos. Viven en medios ricos en azúcares. Tienen una gran importancia económica, pues las fermentaciones del vino, cerveza y pan las realizan levaduras del género *Saccharomyces*. El género *Cándida* es una levadura patógena.

- **Mohos:** Reúne hongos microscópicos, pluricelulares filamentosos. El moho es una fina capa pulverulenta, de diverso color, que forman estos hongos sobre materia orgánica como pan, fruta, queso, carne etc.. Los antibióticos son producidos principalmente por mohos para impedir el desarrollo de las bacterias que competirían con ellos por los nutrientes del medio.

Se comentan a continuación diversos aspectos un poco más concretos de los mohos debido a que la especie seleccionada para este trabajo se trata de uno de ellos.

Los mohos u hongos filamentosos tienen una gran importancia económica, debido a la vez a su nocividad y a su utilidad. Sus actividades nefastas son múltiples: alteración de los productos alimentarios y deterioro en numerosos otros ámbitos, producción de micotoxinas, vida parasitaria a expensas del hombre, animales y plantas. Las acciones nocivas de estos microorganismos son, felizmente y ampliamente compensadas por sus actividades beneficiosas; Responsables de la destrucción de una gran parte de la materia orgánica terrestre, los mohos contribuyen en gran medida a la realización de los grandes ciclos biológicos naturales. Han sido utilizados desde hace muchísimo tiempo por el hombre para la preparación de alimentos, interviniendo sobre todo como agentes de fermentación en la fabricación de quesos y de alimentos de extremo oriente a base de soja. Sintetizan un gran número de sustancias complejas económicamente muy importantes: enzimas, ácidos orgánicos, antibióticos, alcaloides, etc. Los hongos comestibles, algunos de los cuales son cultivados industrialmente, pueden en cierto modo clasificarse entre los mohos en razón de la estructura filamentosa de su micelio; no obstante, su gran número de ramificaciones hace que su agrupamiento sea bastante discutible.

4.1 Quitosán fúngico

Los hongos forman parte de las células eucariotas que incluyen microorganismos como levaduras y mohos, están separados en su propio reino y su mayor diferencia comparada con las plantas que están constituidas por celulosa, es que los hongos contienen quitina. Juegan un papel importante en la degradación de materia orgánica la cual es fuente de nutrientes para su crecimiento y además benefician el ciclo del intercambio con la producción de metabolitos secundarios de interés industrial.

4.2 Características de la pared celular fúngica

La pared celular fúngica ocupa aproximadamente el 40 % del volumen de la célula y es una capa gruesa que rodea al protoplasto. Es una matriz extracelular de carbohidratos poliméricos entrelazados con proteínas, muchas de las cuales tienen carbohidratos adicionados post-traslacionalmente, algunos hongos también contienen melanina. La composición de la pared celular fúngica es dinámica y refleja crecimiento, morfología y alteraciones originadas por cambios ambientales. La transmisión de micrografías electrónicas proporciona evidencia clara de que la pared celular no es homogénea, está organizada en capas (Figura 2), cada una de diferente densidad electrónica que generalmente corresponde a concentraciones de manoproteínas sobre la superficie y quitina y β -glucán cercanas a la membrana celular (Levitz y Specht, 2009).

Son pocos los polisacáridos presentes en la pared celular de los hongos, el glucán se encuentra en un 29 %, el manano 30 % y la quitina entre un 25-30 %. La función de la quitina es dar una delineada y gruesa conformación a la célula, así como conferir fuerza mecánica a la pared celular (Bardalaye y Nordin, 1976). La quitina está ampliamente distribuida en hongos Basidiomicetos, Ascomicetos, Zigomiceto y Ficomicetos (Pochanavanich y Suntorsuk, 2002). Se encuentra en la pared celular del micelio, esporas y tallo, la concentración de quitina en la pared celular depende de su fisiología, medio ambiente y condiciones de fermentación, por lo tanto, las características químicas de la pared celular fúngica han llevado a estudiar esta fuente alterna para la producción del derivado funcional de la quitina que es el quitosán. Recientemente avances en la tecnología de las fermentaciones sugieren la producción a gran escala de cultivos de microorganismos que contienen quitosán y pueden ser una atractiva ruta de obtención (Khalaf, 2004).

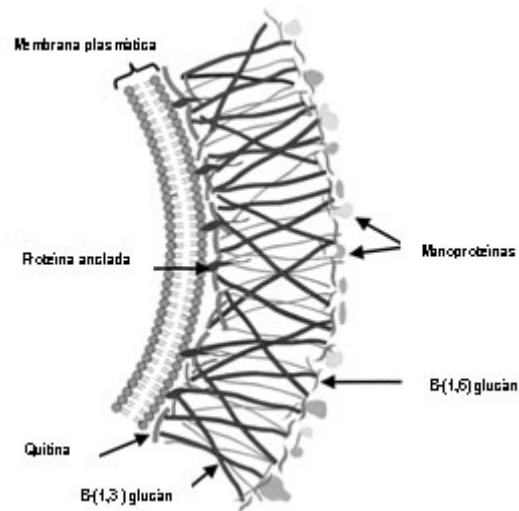


Figura 4: Esquema de la pared celular fúngica [4]

4.3 Principales fuentes fúngicas de quitosán

La producción y caracterización de quitosán ha sido ampliamente estudiada en especies de *Mucor*, *Absidia*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus orizae*, entre otros. Tales cepas han mostrado ser altamente eficientes como fuente de quitosán dependiente de la fuente de carbono empleada durante el proceso de fermentación para la obtención de biomasa (Roberts, 2008).

Mucor rouxii Se ha reportado que *Mucor rouxii* contiene cantidades significativas de quitosán como componente de su pared celular, puede ser cultivado en un medio de simples nutrientes como extracto de levadura, malta/peptona. El organismo es fácil de cultivar, crece a pH entre 4.0-4.5 que inhiben el crecimiento de microorganismos invasores (Davis y Bartnicki, 1984).

White y col. (1979) realizaron estudios con *Mucor rouxii* (ATCC 24905) y obtuvieron de 9 a 14 g/l de biomasa seca, de los cuales 8 al 4 % representan quitosán en 48 horas de crecimiento. Otros estudios han reportado hasta 44 % de quitina (Campana-Filho y col., 2007). Usando como medio de fermentación machacado de frijol para *Mucor rouxii* UPC065 se han obtenido valores de biomasa de 16 g/l y rendimientos de quitosán de 62 mg/g de biomasa a 48 horas de crecimiento.[6][7][8]

Los mohos de este género *Mucor* intervienen en la alteración de algunos alimentos y se utilizan en la fabricación de otros. La especie *Mucor rouxii* se utiliza en el proceso industrial para la sacarificación del almidón siendo especies de este género las que contribuyen a madurar algunos quesos.

4.4 Tipos de fermentación

Un proceso de fermentación se basa en la obtención de productos metabólicos útiles a partir de materiales biológicos (sustratos). Consta de dos fases principales; la fermentación y la recuperación del producto.

Natural: Cuando las condiciones ambientales permiten la interacción de los microorganismos y los sustratos orgánicos susceptibles.

Artificial: Cuando el hombre propicia las condiciones idóneas.

Fermentaciones aeróbicas y anaeróbicas

La fermentación aeróbica de la materia orgánica consiste en su degradación en presencia de oxígeno por medio de bacterias, produciendo principalmente dióxido de carbono, agua i el producto que deriva de la siguiente reacción.

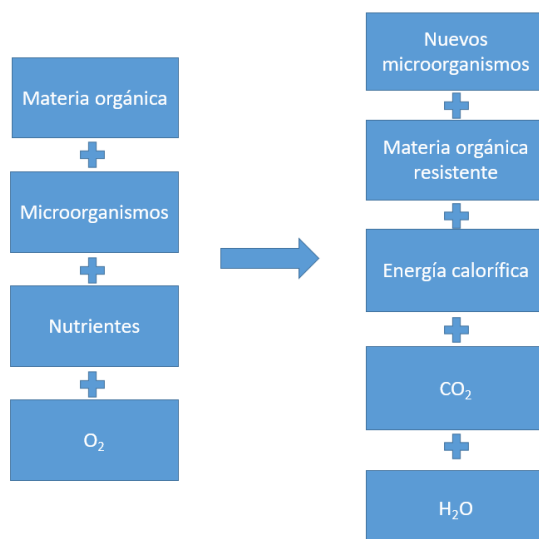


Figura 5 Esquema de una reacción aeróbica [5]

La fermentación anaeróbica de la materia orgánica, consiste en su degradación en ausencia de oxígeno por medio de bacterias, produciendo el conocido biogás; una mezcla de múltiples componentes, con el metano como elemento principal. Entre los demás componentes hayamos dióxido de carbono, amoniaco, sulfuro de hidrogeno y otros.

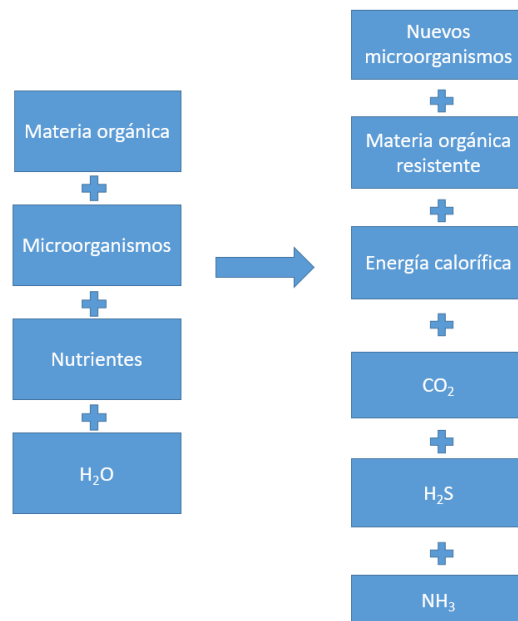


Figura 6 Esquema de una reacción anaeróbica [6]

5. El quitosán

5.1 ¿Qué es el quitosán?

El Chitosan o también llamado quitosán es un polisacárido, el cual se extrae de los exoesqueletos, cáscaras o caparazón de algunos crustáceos marinos, como las gambas, camarones, langostas o cangrejos. Es considerado como una “super fibra” capaz de absorber y atrapar grasa del aparato digestivo para que no sea absorbida por el mismo con el fin de equilibrar nuestro peso corporal. Además de esto tiene numerosos usos en campos tales como la biomedicina, la industria, la agricultura o el medioambiente.

Fue descubierto a mediados del siglo XVIII pero pasó prácticamente desapercibido hasta 1934 cuando se descubrió su estructura cristalina; que abrió las puertas a nuevas investigaciones, pioneras por aquel entonces.

5.2 La quitina y el quitosán

La quitina y el quitosán son polímeros naturales, muy abundantes, que pertenecen a los aminopolisacaridos, y poseen una estructura característica para generar, mediante modificaciones químicas, distintas propiedades, funciones y aplicaciones.

La quitina representa una tercera parte de la composición de la cascara y es altamente hidrofóbica e insoluble tanto en agua como en muchos disolventes orgánicos. El quitosán, el producto que surge de la desacetilación de la quitina, es soluble en ácidos como el acético y el fórmico, además de poseer propiedades como la biocompatibilidad, la biodegradabilidad, la no-toxicidad y su actividad antibacteriana que hacen que sea muy útil para incontables aplicaciones.

Los métodos de producción de quitina y quitosán varían considerablemente en función de la parte del mundo. Esencialmente, todos siguen el proceso de desproteinizar y desmineralizar la cáscara de los crustáceos.

La desproteinización consiste en un baño alcalino de una concentración aproximadamente del 1 o el 2% de hidróxido de sodio a una temperatura entre 60 y 70 °C, se esperan unas horas para que las proteínas se puedan extraer de forma más sencilla y puedan ser reutilizadas para otras aplicaciones como puede ser alimentar animales.

La desmineralización consiste básicamente en la desaparición del carbonato y el fosfato de calcio, esto se consigue con una disolución ácida. El ácido clorhídrico es el más utilizado pero también podrían utilizarse otros ácidos.

La desacetilación de la quitina; El quitosán se prepara mediante la hidrólisis de los grupos acetamida de la quitina, el método más habitual es una hidrólisis alcalina severa ya que ciertos grupos impuestos en la estructura *trans* en los carbonos 2 y 3 son altamente resistentes.

En la tablas siguientes se muestra la composición de las cascara según el peso seco y el contenido de quitina en diferentes especies.

Tabla 1 Composición de las cáscaras según el peso seco.

| | Cangrejos [%] | Langostas [%] | Fungi [%] |
|-------------------|---------------|---------------|-----------|
| Quitina | 25-30 | 30-40 | 15-40 |
| Proteína | 15 | 35 | 5-10 |
| CaCO ₃ | 55 | 30 | |
| Lípidos | 2-5 | 5-10 | 5-10 |

Tabla 2 composición de las cáscaras según el contenido de quitina

| Fuente | Cangrejo de nieve | Aspergillus niger | Mucor rouxii |
|--------------------------|-------------------|-------------------|--------------|
| Contenido de quitina [%] | 18,7-32,2 | 42 | 44,5 |

5.3 Caracterización físico-química del quitosán

Si se procesa de la forma adecuada y se alcanza un grado de pureza elevada, la quitina y el quitosán son de color blanco e inodoros. Su estructura química es muy similar a la de la celulosa; la única diferencia es que el grupo 2-hidroxilo de la celulosa se reemplaza por un grupo acetamida o amino en la quitina o el quitosán respectivamente.

5.3.1 Grado de N-acetilación

Se puede definir como la fracción de unidades de glucopiranosas acetiladas de la cadena del polímero. Es un parámetro importante que afecta directamente en las características y las propiedades físico-químicas de la quitina y el quitosán. Por ejemplo, únicamente las muestras de quitina con un grado de acetilación de entorno al 50% son solubles en agua, las demás ya posean un grado mayor o menor son insolubles. Además, en el caso del quitosán si poseen un DA<15% las moléculas quedan cargadas positivamente en soluciones acuosas con pH inferior a 6.

Se han propuesto muchas formas para determinar el grado de acetilación (DA), los más típicos son la espectroscopia IR, MRN, espectrometría ultravioleta, potenciometría, HPLC.

La más utilizada es la espectroscopia IR por su fácil preparación en el momento de analizar una muestra. El principal inconveniente es que se requiere una calibración muy precisa. Por eso, se utiliza el MRN como método de referencia aunque no todos los laboratorios puedan permitirse disponer de una maquinaria de coste tan elevado.

La potenciometría y la espectrometría ultravioleta requieren muestra disueltas cosa que no se puede conseguir con moléculas con un DA>50%.

Finalmente, la tecnología de HPLC se ha desarrollado y nos permite determinar el DA de las muestras de quitina y quitosán siguiendo los siguientes pasos:

1. La muestra se hidroliza en una mezcla de ácido sulfúrico y ácido oxálico a 155°C durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1h.
2. Durante la hidrólisis, se cuantifica mediante HPLC la cantidad de ácido acético liberado de las unidades acetiladas.

5.3.2 Solubilidad y peso molecular

La selección del disolvente es muy importante cuando el peso molecular debe calcularse a partir de la viscosidad intrínseca con la relación Mark-Houwink.

5.3.3 Efecto del grado de desacetilación y el peso molecular

La relación entre la solubilidad, el peso molecular y el grado de N-desacetilación ha sido estudiada por distintos grupos. La difracción de rayos X y los análisis de desaminación sugieren que la distribución de los grupos N-acetil en la molécula de quitina son más aleatorios que los que se forman en la quitina regenerada.

5.4 ¿Para qué sirve el Quitosán?

Tiene infinidad de usos en distintos campos, aunque los más destacados son los médicos, los industriales y los agrícolas.

5.4.1 Usos Médicos

a) Es altamente efectivo en la creación de vendajes que disminuyen o reducen el sangrado de las heridas. Los Marines de Estados Unidos han hecho pruebas para comprobar que detiene rápidamente las hemorragias y la pérdida de sangre en heridas arteriales, aumentando de esta forma la supervivencia de las personas en situaciones de peligro, comparando los resultados con los obtenidos normalmente con las clásicas gasas. También es hipoalergénico y tiene propiedades antibacterianas naturales.

b) Aunque hay mucha controversia sobre este punto, es cierto que el quitosán ayuda a equilibrar o controlar el peso, gracias a su capacidad “absorbe grasas” pero siempre combinándolo con una buena alimentación sino sus resultados son insignificantes.

c) Tratamientos de Periodontitis.

d) Cirugía Plástica para reconstrucción de tejidos.

5.4.2 Usos Agrícolas y Medioambientales

- a) Tratamiento para aumentar rendimiento, crecimiento y defender a la planta contra agentes externos, especialmente para la lucha contra infecciones por hongos.
- b) Filtración de agua, muy útil en el procesamiento de agua. Eliminando sustancias dañinas y limpiándola de manera efectiva.
- c) Usado en la elaboración de vinos ya que ayuda a prevenir su deterioro y mejora su afinado.

5.4.3 Usos Industriales

- a) Recubrimiento de pintura de poliuretano, capaz de “autosanarse” y evitar los arañazos en la misma producidos por el sol. Consiguiéndose un protector natural para revestimientos de pintura tradicional en coches, mobiliario, envases e incluso medicamentos.
- b) Fabricación de productos con material natural, gracias a su biodegradación y no toxicidad. Ayudando al medioambiente y al reciclado del mismo.

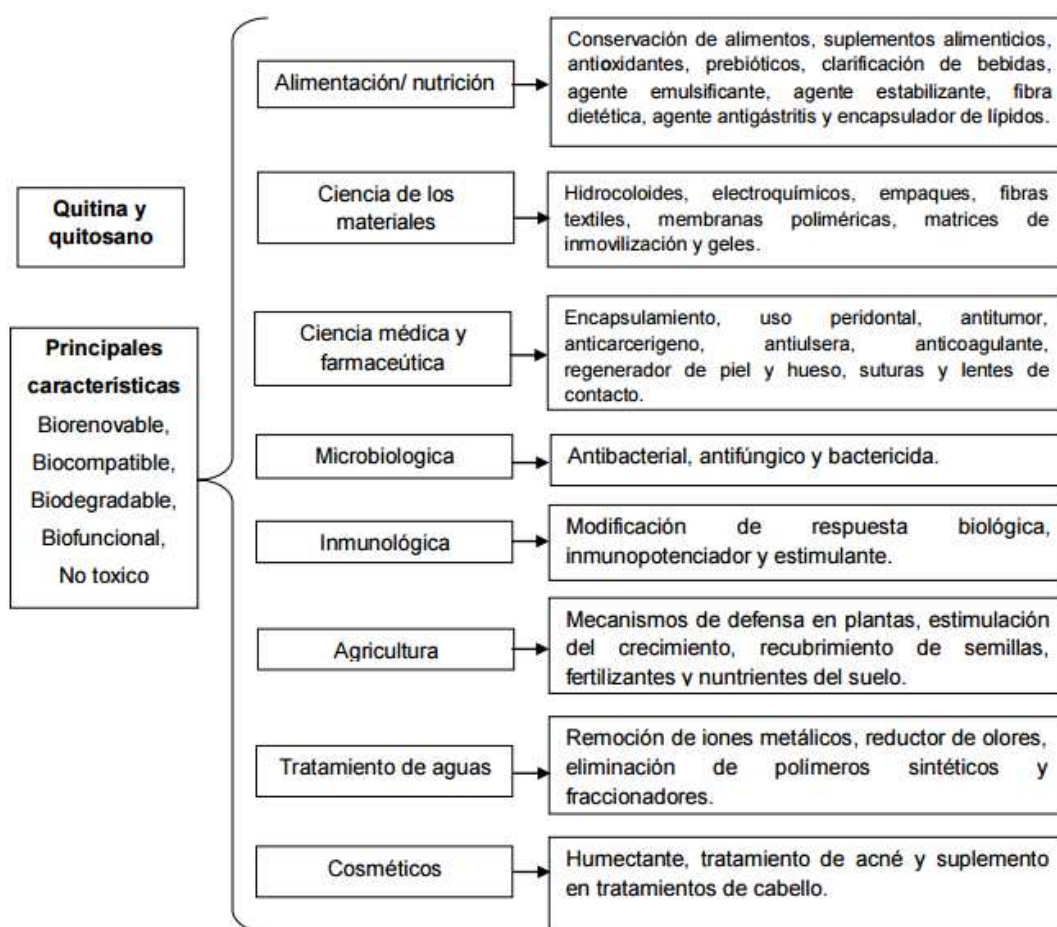


Figura 7 Usos y características del quitosán [7]

5.5 Preparación y síntesis industrial

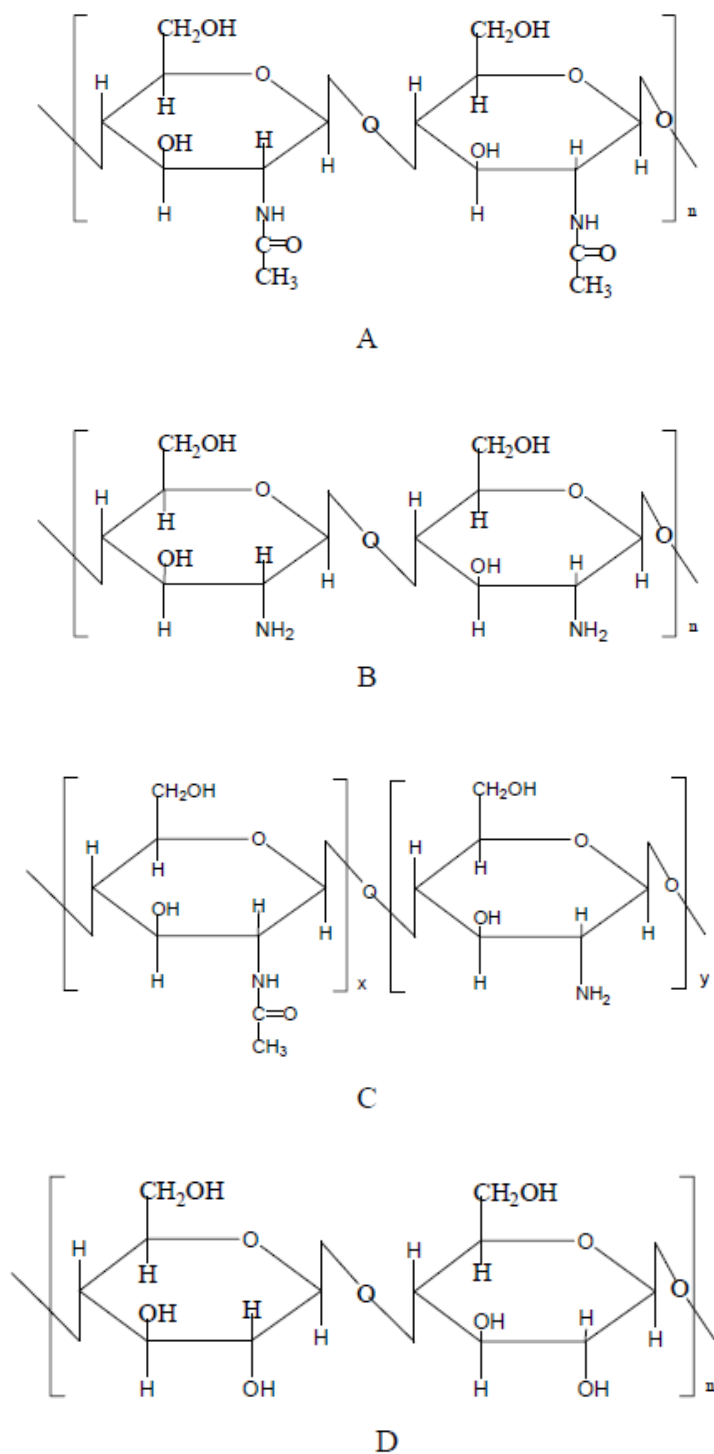


Figura 8 Estructura de (A) quitina, (B) quitosán, (C) copolímero [A+B], (D) celulosa [8]

6. Estado del arte de la producción de quitosán

La producción de quitina y quitosán a partir del micelio de los hongos ha recibido recientemente un aumento de atención debido a sus significativas ventajas. Por ejemplo, mientras los restos de los crustáceos dependen muchos de la estación del año y del lugar, los micelios de los hongos se pueden obtener, con una fermentación adecuada, en cualquier época del año y en cualquier lugar. Además, el micelio de los hongos tiene un nivel de materiales inorgánicos menor al de los restos de crustáceos cosa que permite ahorrarse el tratamiento de desmineralización. Y por si fuera poco la quitina y el quitosán obtenidos a través de la fermentación del micelio de los hongos presentan unas propiedades mucho más consistentes que las obtenidas de los crustáceos que pueden variar.

Seguidamente se comentan, de forma breve y precisa, los datos más relevantes para realizar el diseño de un biorreactor que se han hallado en los estudios realizados, a lo largo de la última década, sobre la obtención de quitosán a partir de la fermentación.

6.1 Primer artículo

Autor- Nadarajah

El tiempo de reacción obtenido en sus estudios es de 72h, en este caso se utiliza la especie *Mucor* sp. El rendimiento máximo obtenido en este experimento es de 557 mg y sabiendo que el volumen utilizado es de 300 ml se obtiene finalmente un valor de 1,85 g/l de concentración.

$$C = \frac{0,557}{0,3} = 1,85 \text{ g/l}$$

Ec.(1)

Las condiciones de trabajo utilizadas para este experimento son de 150 rpm y una temperatura de 30°C.[9]

6.2 Segundo artículo

Autor- Streit

La especie seleccionada en este caso es la *Gougronella Butteri*. Se ha obtenido un tiempo de reacción de 72,5 h y el rendimiento nos permite obtener una concentración de 1,19 g/l, se utiliza un volumen de 350 ml, una agitación de 150 rpm y una temperatura de 30°C.

Además en este artículo se explica cómo se produce la extracción del quitosán. Se utiliza el método de *Synowiecki*. [10]

6.3 Tercer artículo

Autor- White

En este caso, se utiliza la especie *Mucor rouxii* que es la seleccionada para este trabajo. Se obtiene un tiempo de reacción de entre 40 y 80 horas y se obtienen unos rendimientos de entre 0,04 y 0,08 que multiplicados por el factor correspondiente de valor 15 nos permiten obtener una concentración de entre 0,6 y 1,2 g/l.

El volumen utilizado en este caso es de 11 litros, la agitación de 400 rpm y la temperatura de 28°C. Además, en este caso, se introduce el concepto de aireación, con una concentración de 5000 ml/min, que nos permite aumentar el rendimiento de la reacción.[11]

6.4 Cuarto artículo

Autor- Chaterjee

Como en el caso anterior, la especie de este estudio es la *Mucor rouxii*. Los resultados obtenidos son más o menos acordes a los del artículo del señor White. Así pues, el tiempo de reacción esta entorno a las 36h y el rendimiento máximo obtenido es de aproximadamente 0,6 g/l. El volumen utilizado es de 50ml y las condiciones de agitación y temperatura son 120 rpm y 30 °C respectivamente.

Se puede ver una coherencia en los resultados obtenidos por ambos estudios.

Vale la pena mencionar que Chaterjee realizo dos estudios uno en 2004 y otro en 2005 donde obtuvo los mismos resultados utilizando las mismas condiciones de contorno. En 2004 por eso, para la obtención del mismo rendimiento se dispuso de un tiempo de reacción más elevado.

Posteriormente se expondrá el último estudio de Chaterjee realizado en 2009.[12]

6.5 Quinto artículo

Autor- Trutnau

También es un estudio que se basa en la fermentación de *Mucor rouxii* para la obtención de quitosán. En este caso, el tiempo de reacción resulta ser de 24h, obteniéndose un resultado de rendimiento con una concentración entre 0,116 y 0,485 g/l.

| Parameter | | Value |
|----------------------------------|---|---|
| $Y_{X/Gluc}^{obs}$ ^{a)} | Obs. yield coefficient, gram cell dry weight per gram reduced sugar | 0.17–0.31 (g/g) |
| μ_{max} ^{a)} | Maximum specific growth rate for the whole biomass | 0.15–0.21 (1/h) |
| k_{tip} ^{b)} | Hyphal tip extension rate constant | 46 (F10); 30 (F11) ($\mu\text{m}/\text{tip}/\text{h}$) |
| k_{frag} ^{b)} | Fragmentation rate constant | 1.55×10^6 ($1/\text{m}^2/\text{h}$) |
| k_{bran} ^{b)} | Branching rate constant | 25 (F10); 41 (F11) ($\text{tips}/\mu\text{m}/\text{h}$) |

Figura 9 Parámetros cinéticos [9]

Los resultados obtenidos en este artículo siguen las siguientes ecuaciones cinéticas:

$$\frac{de}{dt} = q_{frag} \cdot e \quad \text{Ec.(2)}$$

$$\frac{dl_{t,av}}{dt} = q_{tip} \cdot n_{t,av} - l_{t,av} \cdot q_{frag} \quad \text{Ec.(3)}$$

$$\frac{dn_{t,av}}{dt} = q_{bran} - (n_{t,av} - 2) \cdot q_{frag} \quad \text{Ec.(4)}$$

$$\frac{dC_X}{dt} = q_{tip} \cdot n_{t,av} \cdot 0.25 \cdot \pi \cdot d_{hyph} \cdot (1 - w) \cdot e \quad \text{Ec.(5)}$$

Donde:

e : se define como la concentración de hifas por litro

$l_{t,av}$: se define como la longitud total de una hifa

$n_{t,av}$: se define como el numero total de puntas

q_{tip} : se define como ratio de extension de la punta

q_{bran} : la frecuencia de derivación

q_{frag} : ratio de fragmentación

El volumen utilizado es de 4 litros, la agitación de 700 rpm, la temperatura de 28°C y una aireación de 2vvm. (volumen de aire por volumen del fermentador por minuto)

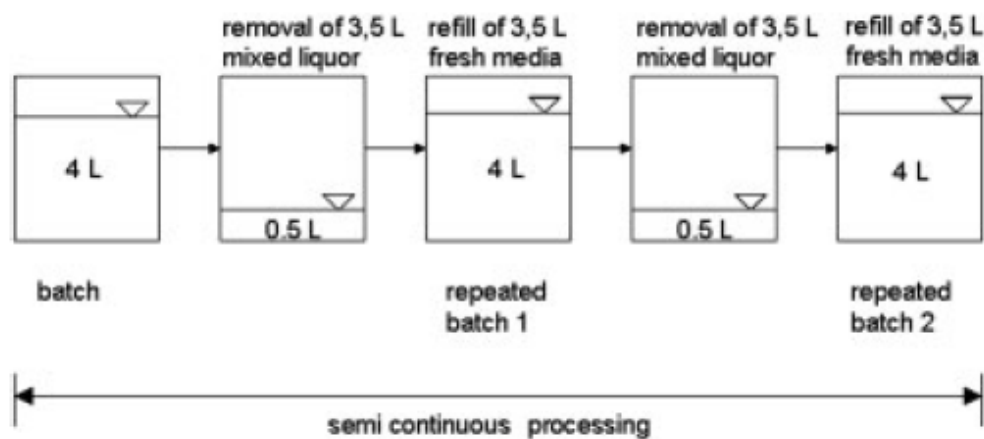


Figura 10 Diagrama explicativo del ensayo [10]

La extracción de quitosán se produce después de haber realizado las tres etapas habituales para la obtención de este a partir del micelio. Así pues, una vez realizada la desproteización, la desmineralización y la desacetilación se centrifuga y se limpia como ya se ha hecho anteriormente durante los anteriores procesos y se introduce en un recipiente de 1L al 10% de ácido acético durante 6h a 70°C para conseguir que el quitosán sea lo único que se disuelva. Seguidamente se añade NaOH (32%) hasta conseguir un ph de entre 8 y 9 para que el quitosán precipite. Finalmente, se centrifuga y se limpia el quitosán obtenido. [13]

Para comprobar si los resultados de este caso son coherentes respecto a los casos anteriores, se obtiene un valor medio de 0,300 g/l en 24h. Teniendo en cuenta que en el estudio de White el tiempo de reacción oscila entre 40-80h con un valor de entre 0,6 y 1,2 g/l vemos que se corresponde bastante bien pero los resultados son ligeramente inferiores. Su comparativa con el estudio hecho por Chaterjee, donde el tiempo de reacción es de 36h con una obtención de aproximadamente 0,6 g/l, también deja un poco que desear ya que en este caso se obtendría para 36h un valor de aproximadamente 0,45g/l.

Así pues, haciendo cálculos para escoger cual es el modelo de estudio que nos ofrece un mayor rendimiento; la conclusión es que se trate de un laboratorio en el cual se trabaja 5 días a la semana o de uno que se trabaje todos los días de la semana, el estudio de Chaterjee junto con el de White son los que nos ofrecen mayor cantidad de producto en una semana de trabajo. Seguidamente se muestran los cálculos en una tabla.

Tabla 3 Cálculos de la producción según los distintos artículos

| | White | Chaterjee | Trutnau |
|--------|---------|-----------|---------|
| 3 días | 1,2 g/l | 0,6 g/l | 1,2 g/l |
| 4 días | ----- | ----- | 1,6 g/l |

6.6 Sexto artículo

Autor- Chaterjee

Este es el estudio que realizó en 2009, en este caso también se trata de la especie *Mucor rouxii*. El tiempo de reacción es de 32h y el rendimiento obtenido está alrededor de 1,03 g/l. Los demás parámetros son los utilizados habitualmente en los estudios realizados anteriormente por Chaterjee; un volumen de 50 ml, una agitación de 120 rpm y una temperatura de 30°C.

Vemos que, en este estudio, los resultados son sorprendentemente superiores a los hallados en los otros artículos. [14]

6.7 Conclusiones

Siendo realistas, las mejores opciones para obtener un buen rendimiento serían los estudios realizados por White i Chaterjee, sobretodo el experimento realizado por este último en 2009.

Por otro lado, la opción que nos ofrece una cinética que podamos estudiar y nos ayude a entender mejor el proceso y los cálculos que se han de realizar para establecer el diseño del reactor solo aparecen en el artículo de Trutnau. Por este motivo, basaremos este trabajo en los parámetros cinéticos y los cálculos que se han obtenido en ese estudio.

7. Biorreactor

Se podría considerar que el biorreactor es la figura central de todo proceso tecnológico. Tanto el diseño como el análisis del comportamiento de un biorreactor dependen, en gran medida, del grado de conocimiento que se tenga sobre la cinética de las reacciones biológicas que intervendrán, así como de sus balances de materia y energía. Aunque dicho así parezca algo sencillo, experimentalmente se trata de algo muy complejo debido a la naturaleza de la catálisis biológica y el caldo de fermentación los cuales, debido a sus propiedades transitorias, además de los procesos de transferencia de masa y calor ya intrínsecos, añaden dificultad al problema.

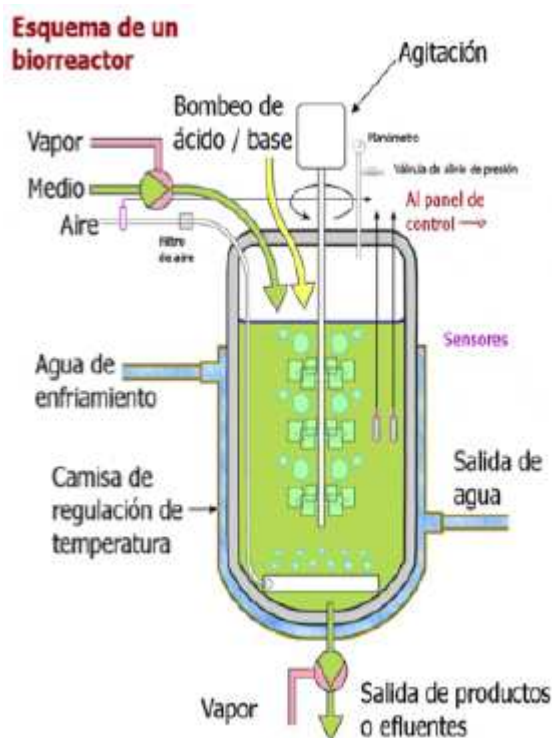


Figura 11 Esquema de un biorreactor [11]

7.1 Tipos de biorreactores

Los biorreactores se catalogan según el método de alimentación; discontinuo (BATCH), semicontinuo (Fed-Batch) y continuo.

7.1.1 BATCH:

En este caso el crecimiento de microorganismos se refiere a que las células se cultivan en un recipiente con una concentración inicial y esta no se altera con ningún tipo de nutriente o lavado adicional, por tanto el volumen se mantiene constante. Entonces el operador tiene control sobre las condiciones ambientales tales como el pH, la temperatura, etc. El proceso llega a su fin cuando el 100 % del sustrato ha sido consumido por la biomasa.

Las características principales de estos reactores son las siguientes:

- a) La reacción química se desarrolla en un sistema cerrado.
- b) Todos los reactivos son cargados al reactor al inicio de la operación.
- c) Al final de la operación, la mezcla reactiva se descarga a un mismo tiempo.
- d) Operan en régimen inestable.
- e) Se considera que los gradientes de concentración, temperatura y presión son despreciables. Estas consideraciones permiten que el diseño se plantee en un plano ideal.

Algunas ventajas de los reactores por lotes (BATCH) son las siguientes:

- a) Su operación es sencilla.
- b) Es más versátil que un reactor continuo.
- c) El coste inicial es menor que el de los reactores continuos.

Algunas desventajas de este tipo de reactores son:

- a) El coste de operación es mayor que el de los reactores continuos.
- b) Requiere un ciclo de operación complicado.

Este tipo de reactor se utiliza en los siguientes casos:

- a) se utilizan generalmente para líquidos.
- b) Cuando se desea una velocidad de producción pequeña.
- c) Para estudios cinéticos de laboratorio.
- d) Cuando el tiempo de residencia para lograr una determinada calidad es muy grande.
- e) Cuando se desea obtener un producto muy puro [15]

7.1.2 Fed-Batch:

En este tipo de alimentación los nutrientes se añaden al cultivo de forma intermitente mientras no haya efluente en el sistema. En función de cual sea el objetivo, la adición adquiere un papel importante ya que ayuda a obtener un mejor rendimiento en la fermentación. El volumen del reactor limita las posibilidades de este método.

7.1.3 Continuo (CSTR):

Un reactor CSTR es un tanque en el cual la masa reaccionante es continuamente agitada de tal manera que se considera como una mezcla completa y, por lo tanto, se asume que sus propiedades son uniformes en todo el interior del reactor. La ecuación de diseño de un reactor de mezcla completa:

$$\frac{V}{F_{Ao}} = \frac{\tau}{C_{Ao}} = \frac{X_A}{-r_A} \quad \text{Ec.(6)}$$

Siendo V , el volumen del reactor, F_{Ao} , el flujo molar del reactivo limite, τ , el tiempo especial, C_{Ao} , la concentración del reaccionante A en la corriente de entrada, X_A , la conservación de A y r_A , la velocidad de reacción de A.

La velocidad de una reacción no catalítica depende de la concentración de reaccionante. Con respecto al reaccionante A, la ecuación de velocidad de reacción se expresa de la siguiente manera:

$$-r_A = kC_A^n \quad \text{Ec.(7)}$$

Siendo k , la constante específica de velocidad de reacción, n , el orden cinético de la reacción y C_A , la concentración de reaccionante.

El orden de una reacción se determina experimentalmente y la constante de velocidad de reacción depende de la temperatura de la reacción y se puede calcular con la ecuación de Arrhenius, de la forma:

$$k = A \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \quad \text{Ec.(8)}$$

Siendo A , el factor pre-exponencial, E , la energía de activación, T , la temperatura en escala absoluta y R , la constante universal de los gases.[16]

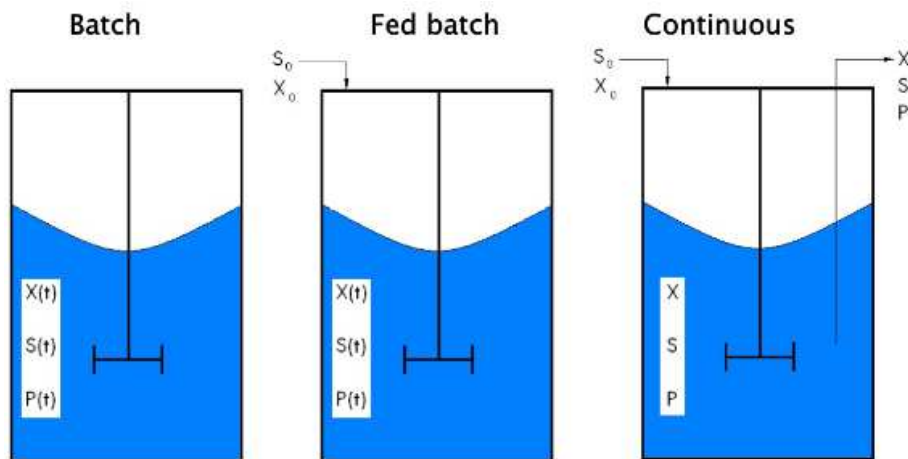


Figura 12 Representación de los distintos tipos de alimentación de los biorreactores.[12]

7.2 Parámetros cinéticos

Son datos muy relevantes ya que nos permiten describir la evolución de la población microbiana. Conociendo el comportamiento de esta se puede modelar el sistema de la forma que más nos interese. El modelo más habitual es el de Monod.

Uno de los parámetros más significativos es la tasa de crecimiento (μ) que se define como la velocidad de crecimiento de la biomasa (r_1) por unidad de concentración de biomasa ($x^{(1)}$).

$$\mu = \frac{r_1}{x^{(1)}}$$

Ec.(9)

Según el modelo de Monod:

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{k_s + S}$$

Ec.(10)

Donde:

μ_{max} : se define como la constante de velocidad máxima de crecimiento.

S: concentración del sustrato limitante.

K_s : constante de velocidad de crecimiento.

[17]

Seguidamente se muestran en las figuras 13 y 14 los balances de masa celular y de sustrato:

$$\begin{aligned}
 \left[\begin{array}{l} \text{Rate of} \\ \text{accumulation} \\ \text{of cells,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] &= \left[\begin{array}{l} \text{Rate of} \\ \text{cells} \\ \text{entering,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{Rate of} \\ \text{cells} \\ \text{leaving,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{Net rate of} \\ \text{generation} \\ \text{of live cells,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] \\
 V \frac{dC_c}{dt} &= v_0 C_{c0} - v C_c + (r_g - r_d) V
 \end{aligned}$$

Ec.(11)

Figura 13 Balance de masa celular [13]

$$\begin{aligned}
 \left[\begin{array}{l} \text{Rate of} \\ \text{accumulation} \\ \text{of substrate,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] &= \left[\begin{array}{l} \text{Rate of} \\ \text{substrate} \\ \text{entering,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{Rate of} \\ \text{substrate} \\ \text{leaving,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{Rate of} \\ \text{substrate} \\ \text{generation,} \\ \text{g/s} \end{array} \right] \\
 V \frac{dC_s}{dt} &= v_0 C_{s0} - v C_s + r_s V
 \end{aligned}$$

Ec.(12)

Figura 14 Balance de sustrato [14]

Fase de crecimiento celular o fase de latencia

Es la fase inicial, en esta no hay crecimiento propiamente dicho aunque haya presencia activa del metabolismo. Se estudia el medio del cultivo y se opera en función de las necesidades nutricionales de este.

Fase exponencial

En esta fase se produce la duplicación celular de forma muy veloz. El tiempo que tarda una célula en duplicarse es conocido como tiempo de duplicación o regeneración.

Fase estacionaria

Esta es la fase en la cual la velocidad de división celular decrece hasta el punto de obtener un número constante de células ya que el ritmo al que se destruyen se iguala con el ritmo al que se forman nuevas células.

Fase de muerte celular

Es la etapa final y en ella el aspecto más relevante es que ya no se produce la división celular cosa que hace que ya no se generen nuevas células. Así pues, las células mueren de manera irremediable y la cinética se desarrolla siguiendo otro tipo de ecuación.

En la imagen siguiente se muestra una representación gráfica de las fases expuestas:

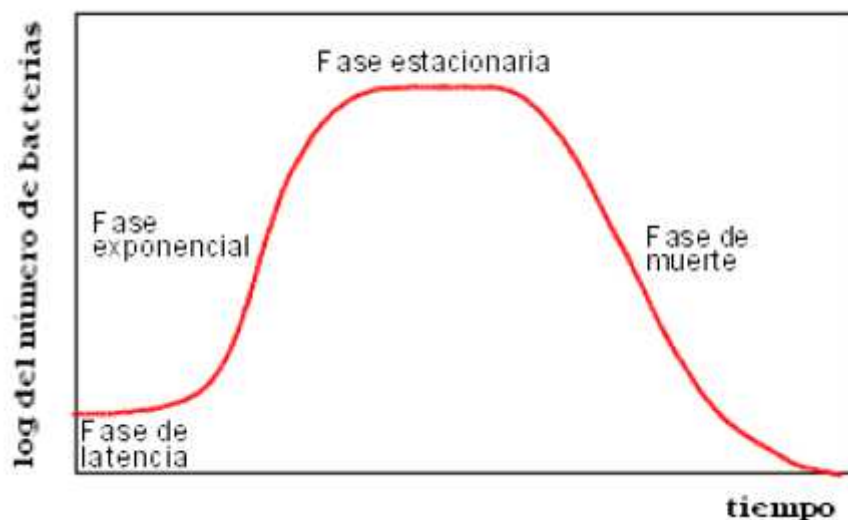


Figura 15 Gráfica del ciclo celular.[15]

7.3 Temperatura

Para la clasificación de los organismos a tratar dentro de un biorreactor, otro de los principales aspectos a tener en cuenta es la temperatura, ya que estos reaccionan de distinta forma en función de esta.

La siguiente clasificación nos permite establecer una separación de los organismos en función de los puntos de temperatura donde su rendimiento es mejor.

Psicrófilos → cuya temperatura óptima es inferior a 20 ° C.

Mesófilos → cuya temperatura óptima se haya entre los 20 y los 50 ° C.

Termófilos → cuya temperatura óptima debe ser superior o igual a 50 °C.

El efecto que provoca el incremento de temperatura afecta también a un incremento en la velocidad de crecimiento, esta se multiplica por dos por cada aumento de 10°C hasta llegar a la temperatura óptima. Llegado este punto, esta disminuye e incluso se puede producir la muerte celular. Además de todo esto, la temperatura de formación de producto suele ser distinta de la óptima para el crecimiento microbiano y por tanto el rendimiento se ve comprometido.

7.4 PH

La concentración de iones hidrógeno afecta a la actividad enzimática y la velocidad de crecimiento microbiano. En este caso también nos encontramos con el problema de rendimiento ya que el pH óptimo para el crecimiento microbiano puede ser distinto del requerido para la formación de producto.

En el siguiente cuadro se puede apreciar el rango de pH óptimo para cada uno de los organismos más habituales.

Tabla 4 Rango de ph óptimo según las distintas especies.

| Organismos | Rango de pH óptimo |
|-------------------|--------------------|
| Bacterias | 3-8 |
| Levaduras | 3-6 |
| Mohos | 3-7 |
| Células vegetales | 5-6 |
| Células animales | 6,5-7,5 |

7.5 Agitación

La agitación es la operación que crea o que acelera el contacto entre dos o más fases. Una fermentación microbiana puede ser considerada como un sistema de tres fases, que implica reacciones líquido-sólido, gas-sólido i gas-líquido.

La fase líquida contiene sales disueltas, sustratos, etc. Se podría dar el caso de tener una segunda fase líquida si el sustrato fuera inmiscible en agua como sucede con algunos compuestos, por ejemplo los alcanos.

La fase sólida consiste en células individuales, bolas de micelio, sustratos insolubles o productos del metabolismo que precipitan.

La fase gaseosa proporciona una reserva para el suministro de oxígeno, por eliminación del CO₂ o por ajuste del pH con amonio gaseoso.

La correcta agitación del cultivo microbiano es esencial para la fermentación, ya que gracias a esta se consiguen los siguientes efectos en las tres fases:

1. Dispersión del aire en la solución de nutrientes
2. Homogenización para igualar la temperatura, pH y concentración de nutrientes en el fermentador
3. Suspensión de los microorganismos y de los nutrientes sólidos
4. Dispersión de los líquidos inmiscibles

[18]

Se llega entonces a la conclusión de que una buena agitación nos permite un mejor crecimiento. Esta agitación no debe ser excesiva ya que entonces sería contraproducente; la temperatura del conjunto aumentaría y se produciría la rotura de las células. Así pues, se busca un equilibrio en el que convivan la necesidad de obtener una buena mezcla y la necesidad de preservar la unidad de las células y sus propiedades.

7.6 Criterios iniciales de diseño de un biorreactor

1. Tener caracterizado morfológica y bioquímicamente el cultivo a usar.
2. Características hidrodinámicas del reactor: es necesario minimizar los fenómenos de transporte en el reactor, para evitar gradientes de nutrientes, temperatura.
3. La cinética de crecimiento bacteriana debe estar ampliamente estudiada.
4. Asegurar la estabilidad genética del microorganismo, impidiendo que se estimulen mutaciones.
5. Esterilización lo más barata posible, hasta el punto que, a pesar de su importancia, y según el proceso, se llega a obviar.
6. Control de las condiciones ambientales (temperatura, pH, presión, etc)
7. Construcción y modo de operación.
8. Facilidad para el escalado.
9. Inclusión de sistemas de oxigenación adecuados a las exigencias del microorganismo.
10. Sistemas de muestreo para determinar las condiciones internas del biorreactor.
11. Adopción de refrigeradores, para mantener constantes las condiciones de temperatura (la actividad microbiana genera una gran cantidad de calor, que puede afectar negativamente a la producción).
12. Materiales no tóxicos (ni para el microorganismo ni para el consumo).

7.7 Tipos de biorreactores

- De lecho fijo o empaquetado: Los microorganismos se encuentran en una matriz empaquetada. Por lo general, la alimentación se produce de forma vertical en sentido ascendente.
- En columna de burbujas: El sustrato es el medio líquido en el que están inmersas las células, aportándose este por la parte inferior del reactor. Se insufla gas comprimido por la parte inferior que, junto con una serie de bucles externos permite homogeneizar el interior del reactor.
- De lecho fluidizado: No son muy corrientes, dado su alto coste y complejidad. El microorganismo permanece suspendido (debido al burbujeo continuo, lo que no es fácil de conseguir) en el fermentador, como consecuencia del sustrato líquido ascendente.
- De lecho de goteo: Son los más tradicionales (similares a los de lecho fijo). El sustrato se hace pasar lentamente por la matriz empaquetada que contiene al microorganismo (un proceso semicontinuo aunque permiten trabajar también en discontinuo) lo que supone la consideración de un tiempo de residencia en dicha matriz.
- De enzimas o células inmovilizadas: Son los más interesantes y novedosos. Los de enzimas presentan grandes ventajas, pero es difícil aislar la enzima que nos interesa. Disminuye los costes gracias a la reutilización del biocatalizador. La inmovilización puede realizarse por medios físicos o químicos. Pero tienen el inconveniente de aumentar la inestabilidad genética ya que las células pueden participar en varios procesos fermentativos.

7.8 Escalado

Se puede definir el escalado como el proceso para diseñar y construir un sistema a gran escala en base a los resultados obtenidos experimentalmente con equipamiento de una escala más reducida.

Los siguientes parámetros deben tenerse en cuenta en el momento de trasladar el diseño de un prototipo optimizado a una escala mayor.

- El diseño geométrico
- Las variables de operación
- Las propiedades del fluido
- Procesos de transporte
- Cinética de los organismos

Criterios a seguir:

1. Mantener constante la potencia por volumen utilizada.
2. Mantener constante el coeficiente volumétrico de transferencia de masa.
3. Mantener constante la velocidad de la punta de las paletas del agitador.
4. Mantener constante el tiempo de mezclado.
5. Mantener constante el número de Reynolds.
6. En procesos con productos viscosos o crecimiento filamentoso la limitación viene dada por la relación P/V o por la agitación del fluido.
7. En los procesos aeróbicos se debe mantener constante la transferencia de oxígeno.

[19]

8. Diseño teórico del biorreactor

En este apartado del trabajo se analizará cuáles son las características necesarias tanto del propio reactor, como las condiciones óptimas para una mejor fermentación del cultivo.

Primeramente, mencionar que se ha escogido un tanque agitado (CSTR) que trabaje en continuo o semi-continuo. La decisión se toma a raíz de los estudios analizados y ya expuestos en este trabajo.

8.1 Suministro de oxígeno

En varias de las fermentaciones vistas en los artículos expuestos, se utiliza una aireación para mejorar el rendimiento de la operación. Es por este motivo, que el biorreactor que se diseñara en este trabajo también llevara incorporado un sistema de aireación, y así poder cumplir los objetivos de producción que se detallarán más adelante.

Hay que tener estricto cuidado en no sobrepasarse con la cantidad de oxígeno suministrado, ya que eso puede afectar de forma negativa al crecimiento que se desea.

8.2 Temperatura

En la mayoría de los estudios se expone que la temperatura óptima de trabajo estará alrededor de 30°C.

El método más utilizado para mantener la temperatura de trabajo constante es una camisa de agua como la que se muestra en la figura.

En este trabajo se intentará realizar un aislamiento del reactor para mantener la temperatura constante y así no tener que disponer de ningún otro mecanismo como sería la camisa visualizada en la figura.

Hay que tener en cuenta que la esterilización del medio requiere una temperatura relativamente elevada en comparación con la de trabajo. Por tanto, se debe disponer de un mecanismo que nos permita alcanzar los 120°C aproximadamente durante un periodo de tiempo de 20 min por lo menos.

Si por motivos termodinámicos o de transferencia de calor, una vez realizados los cálculos no fuera posible conservar la temperatura el tiempo de reacción establecido para la operación, se utilizaría la camisa o un intercambiador.

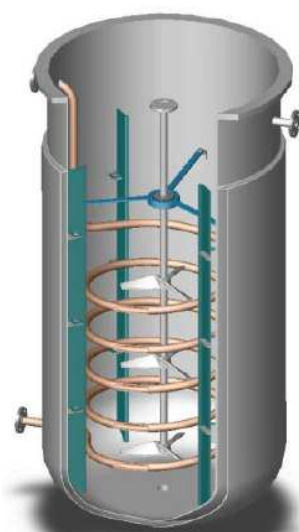


Figura 16 Camisa de refrigeración de un biorreactor [16]

8.3 PH

Como se ha visto a lo largo del trabajo la especie *Mucor rouxii* es un moho y por tanto según la tabla expuesta en el apartado de PH anterior se aprecia que el rango óptimo se haya entre los valores de pH= 3 y pH=7. Además, los distintos autores que han realizado estudios mencionan en estos que el pH óptimo para la producción suele estar entorno a valores de pH=4,5.[20]

8.4 Cultivo y esterilización

En el estudio de Trutnau se explica de forma clara que el cultivo de *Mucor rouxii* DSM 1191 se obtiene de la colección DSMZ de cultivos y microorganismos (Braunschweig, Alemania).

Las células para inocular el cultivo crecen en la dextrosa de las patatas con unas condiciones de temperatura de 30°C durante un periodo de tiempo de 96h. Las suspensiones de esporas se preparan inundando el medio en agua destilada.

Los nutrientes utilizados son: 40g de glucosa, 10g de peptona, 1g de extracto de levadura, 4.8g (NH₄)₂SO₄, 0.5g MgSO₄·7H₂O, 0.2g CaCl₂, 50ml de agua del grifo y 950ml de agua destilada.

La esterilización del medio se consigue mediante unas condiciones de estanqueidad del reactor a una temperatura de aproximadamente 121°C durante unos 20 minutos.[21]=[13]

8.5 Producción estimada y cálculos correspondientes

En este trabajo, uno de los objetivos principales, a parte del propio diseño del bioreactor, es la posibilidad de poder tener una producción de quitosán a nivel de planta piloto más o menos considerable.

Partiendo de la base que el reactor trabajara 50 semanas anuales que equivalen a 350 días anuales; los demás días se establecen para el mantenimiento y la limpieza de los equipos. La producción semanal, teniendo en cuenta que el tiempo de reacción para la obtención de quitosán se puede establecer en 24h si se siguen las directrices del estudio de Trutnau, será la siguiente:

$$P_{\text{semanal}} = \frac{0,4 \text{ g/l}}{1 \text{ día}} \cdot \frac{4 \text{ días}}{1 \text{ semana}} = 1,6 \text{ g/l quitosán semanales} \quad \text{Ec.(13)}$$

Por tanto, en cada ciclo de trabajo (24h) la producción obtenida será de:

$$P_{\text{anual}} = \frac{1,6 \text{ g/l}}{\text{semana}} \cdot \frac{50 \text{ semanas}}{1 \text{ año}} = 80 \frac{\text{g}}{\text{l}} \text{ quitosán anuales} \quad \text{Ec.(14)}$$

Como los estudios que se han analizado tienen una producción por ciclo superior a la requerida para cumplir nuestras expectativas ya sabemos que podremos cumplirlas sin ningún tipo de problema.

8.6 Volumen del fermentador requerido para la producción estimada

Se conoce que el volumen útil de un biorreactor es aproximadamente un 70% del volumen real, además de forma habitual se establece, para un reactor BATCH vertical, que el diámetro sea 2/3 de la altura. Teniendo en cuenta estos datos se realizan los cálculos pertinentes para dimensionar el biorreactor.

$$Vsustrato = \frac{50 \text{ kg}}{80 \frac{\text{g}}{\text{l}}} = 625 \text{ L}$$

Ec.(15)

$$Vsustrato = 78\% V_{final}$$

Ec.(16)

$$V_{final} = 800 \text{ L}$$

Ec.(17)

Así pues, teniendo en cuenta que el volumen necesario de sustrato es de 625 L se establece que el volumen total del biorreactor será de 800 L. Las distintas fórmulas para realizar los cálculos de diseño son las siguientes:

$$V_{cilindro} = \frac{\pi}{4} \cdot D^2 \cdot h = 800 \text{ L} = 0,80 \text{ m}^3$$

Ec.(18)

$$D = \frac{2}{3} \cdot h$$

Ec.(19)

$$V_{cúpula} = \frac{1}{3} \cdot \pi \cdot a^2 \cdot (3r - a)$$

Ec.(20)

La variable a de la fórmula es la altura establecida para la cúpula y r el radio de esta.

Finalmente, por tanto, el volumen del reactor se calcula de la siguiente manera.

$$V_{reactor} = 0,80 \text{ m}^3 = \frac{\pi}{4} \cdot \left(\frac{2}{3} \cdot h\right)^2 \cdot h + \frac{1}{3} \pi \cdot a^2 \cdot (h - a)$$

Ec.(21)

A partir de esta fórmula se obtienen los resultados que nos permiten dimensionar el reactor; en este caso los resultados obtenidos son:

$$h = 130 \text{ cm}$$

$$D = 87 \text{ cm}$$

8.7 Intercambiador de calor

Un intercambiador de calor en un sistema de intercambio de energía en forma de calor entre un fluido caliente y un fluido frío. En la práctica, toda la potencia cedida por el fluido caliente (fc) es absorbida por el fluido frío (ff), cumpliéndose el siguiente balance de energía:

$$\dot{Q}_{fc} = \dot{Q}_{ff} \quad \text{Ec.(22)}$$

La potencia térmica en un fluido en estado líquido depende del caudal másico y de la diferencia entre las temperaturas de entrada y salida. En un fluido con cambio de fase en condiciones de saturación (condensación o evaporación), la potencia térmica depende del caudal másico y de la entalpía de cambio de fase, la cual viene determinada por la presión de saturación.

El proceso queda definido cuando todos los parámetros han sido fijados por el cliente, a excepción de uno, que será calculado por aplicación del balance de energía anterior. Por ejemplo:

Producto líquido (p), servicio líquido (s). Lo habitual es definir el caudal y las temperaturas de entrada y de salida del producto, y dejar libre uno de estos tres valores en el fluido de servicio:

$$\dot{m}_p \cdot c_{p_p} \cdot (T_{2p} - T_{1p}) = \dot{m}_s \cdot c_{p_s} \cdot (T_{2s} - T_{1s}) \quad \text{Ec.(23)}$$

Producto líquido (p), servicio con cambio de fase (s). Lo habitual es definir el caudal y las temperaturas de entrada y de salida del producto, así como la presión de en el servicio, dejando libre el caudal de servicio.

$$\dot{m}_p \cdot c_{p_p} \cdot (T_{2p} - T_{1p}) = \dot{m}_s \cdot h_s[P_s] \quad \text{Ec.(24)}$$

8.7.1 Propiedades térmicas

Para el diseño del intercambiador de calor es necesario conocer las siguientes propiedades térmicas, tanto para el producto como para el servicio: densidad, calor específico, conductividad y viscosidad. En general, para el diseñador es interesante conocer el valor de estas propiedades a diferentes temperaturas, dentro del rango de trabajo.

Pero en la industria alimentaria, esta información cobra una relevancia total: la viscosidad de los productos alimentarios cambia muy bruscamente con la temperatura (más acusadamente con temperaturas bajas) y es común encontrar un comportamiento no Newtoniano del producto, en el que la viscosidad depende además de la velocidad de paso por el intercambiador.

Por tanto, una caracterización adecuada de las propiedades térmicas es la base para un diseño óptimo del intercambiador de calor.

8.7.2 Definición de intercambiador

Una vez establecido el proceso y caracterizadas las propiedades térmicas de los fluidos, comienza la labor de definición del intercambiador de calor.

Elección de los materiales.

SACOME fabrica sus intercambiadores de calor en acero inoxidable y acero carbono, y pone al servicio de sus clientes otros materiales especiales para aplicaciones con alto riesgo de corrosión.

Elección de la geometría.

Esta elección dependerá del tipo de proceso y de la naturaleza del producto; para poder seleccionar el intercambiador tubular adecuado, evaluando los diferentes requerimientos: velocidades de paso, pérdidas de carga, espacio disponible, etc.

Las geometrías tubulares más empleadas son:



Figura 17 Intercambiador de dos tubos concéntricos. [17]



Figura 18 Intercambiador de espacio anular. [18]

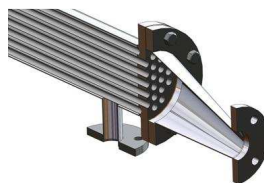


Figura 19 Intercambiador de carcasa y tubos.[19]

8.7.3 Diseño térmico del intercambiador

A partir de la definición del intercambiador, el punto clave en la labor del diseñador es el dimensionamiento del equipo. El diseñador debe calcular el área de intercambio óptima que permita realizar el proceso especificado, satisfaciendo todos los requisitos impuestos por el cliente.

Para ello se aplica la siguiente ecuación de transmisión, donde Q es la potencia intercambiada por los fluidos, U es el coeficiente global de transferencia térmica, A es el área de intercambio y $LMTD$ es la diferencia logarítmica media de temperaturas.

$$\dot{Q} = U \cdot A \cdot LMTD \quad \text{Ec.(25)}$$

Esta ecuación debe discretizarse a lo largo del intercambiador en un número suficiente de secciones: la efectividad de la transferencia de calor entre los fluidos varía a lo largo del intercambiador porque, entre otros motivos, las propiedades térmicas varían con la temperatura y existen complejos fenómenos térmicos que se desarrollan a lo largo del intercambiador.

Para entender el procedimiento de cálculo, puede aplicarse la ecuación de transmisión a la totalidad del intercambiador, y obtener una primera aproximación al área de intercambio requerida. A continuación se ilustra este procedimiento en un intercambiador de dos tubos concéntricos que procesa fluidos líquidos en contracorriente.

8.7.3.1 Determinación de la potencia intercambiada.

Se obtiene directamente a partir de los datos de proceso ya establecidos para el producto, el cual se procesará habitualmente por el tubo interior.

$$\dot{Q} = \dot{m}_p \cdot c_{p,p} \cdot \Delta T_p \quad \text{Ec.(26)}$$

8.7.3.2 Determinación de la diferencia logarítmica media de temperaturas.

Se define entre dos secciones del intercambiador, y depende de las temperaturas de entrada y de salida del producto y del servicio. Cuando se aplica a la totalidad del intercambiador, estas cuatro temperaturas sí son conocidas; cuando se aplica sobre una discretización, hay valores a priori desconocidos y es preciso ejecutar un proceso iterativo de convergencia.

$$LMTD = \frac{(T_{s,s} - T_{e,p}) - (T_{e,s} - T_{s,p})}{\ln \left(\frac{T_{s,s} - T_{e,p}}{T_{e,s} - T_{s,p}} \right)} \quad \text{Ec.(27)}$$

8.7.3.3 Determinación del coeficiente global de transferencia térmica.

Se obtiene como la suma de cada una de las resistencias térmicas presentes:

$$U = \frac{1}{R_{h,p} + R_{f,p} + R_{h,s} + R_{f,s} + R_k} \quad \text{Ec.(28)}$$

8.7.3.3.1 Resistencia térmica de convección.

Evalúa la transferencia de calor que se produce por convección en ambos canales de paso de fluido. Es inversamente proporcional al coeficiente de transferencia térmica del fluido, h .

En el canal de producto, siendo D_p y d_p los diámetros exterior e interior del tubo interior, es:

$$R_{h_p} = \frac{1}{h_p} \cdot \frac{D_p}{d_p} \quad \text{Ec.(29)}$$

En el canal de servicio es:

$$R_{h_s} = \frac{1}{h_s} \quad \text{Ec.(30)}$$

El paso crítico en el diseño del intercambiador es precisamente la determinación de los coeficientes de transferencia térmica h de una manera fiable y precisa: un cálculo erróneo de dichos coeficientes dará como resultado un funcionamiento insuficiente del intercambiador, llegando incluso a no alcanzar las temperaturas deseadas.

Dependiendo del canal de paso (tubo, espacio anular, etc.) y del régimen del flujo (laminar, turbulento, etc.) será necesario establecer una correlación empírica adecuada para el número de Nusselt Nu , que es el parámetro adimensional a partir del cual se obtiene el coeficiente de transferencia h . En general, el Nusselt dependerá de otros parámetros adimensionales como son el número de Reynolds, el número de Prandtl, el número de Graetz, el número de Grashof, etc.

8.7.3.3.2 Resistencia térmica de conducción.

Evalúa la transferencia de calor que se produce por conducción en el tubo interior que separa a ambos fluidos. Para un tubo, siendo k la conductividad térmica del metal, se define como:

$$R_k = \frac{D_p}{2k} \cdot \ln\left(\frac{D_p}{d_p}\right) \quad \text{Ec.(31)}$$

8.7.3.3.3 Resistencia térmica de ensuciamiento.

Con el funcionamiento del intercambiador, es habitual que en las superficies en contacto con los fluidos se vayan depositando películas formadas por las impurezas de los propios fluidos. Estas resistencias de ensuciamiento, o “fouling”, empeoran la transferencia de calor.

En aplicaciones, generalmente industriales, en las que se requiere retrasar la parada del intercambiador para su limpieza, es práctica común considerar que estas resistencias extra estarán presentes desde el inicio, con lo que se sobredimensiona el equipo. En aplicaciones alimentarias no se consideran, ya que los trabajos de limpieza son más continuos.

En el canal de producto es:

$$R_{f_p} = f_p \cdot \frac{D_p}{d_p} \quad \text{Ec.(32)}$$

En el canal de servicio es:

$$R_{f_s} = f_s \quad \text{Ec.(33)}$$



8.7.3.3.3.1 Cálculo del área de intercambio requerida.

Por aplicación directa de la ecuación de transmisión ya se puede obtener el área de intercambio requerida. Puesto que el diámetro del tubo interior ya ha sido fijado, la solución al problema consiste en obtener la longitud total del intercambiador L_t :

$$A = \pi \cdot D_p \cdot L_t = \frac{\dot{Q}}{U \cdot LMTD} \quad \text{Ec.(34)}$$

El resultado obtenido es el área teórica requerida. Pero es necesario seleccionar una longitud de tubo existente en el mercado, L : si esa longitud es menor que la teórica, entonces se requiere disponer un número determinado de intercambiadores, n , en serie.

$$n \cdot L \geq L_t \quad \text{Ec.(35)}$$

En cualquier caso, siempre será recomendable elegir un área de intercambio mayor a la teórica, en función de la mayor o menor incertidumbre que exista a la hora de determinar las propiedades térmicas de los fluidos, las resistencias de ensuciamiento o los factores de transferencia térmica. Para cuantificar ese sobrediseño se define un coeficiente global de transferencia térmica requerido o “sucio”:

$$\pi \cdot D_p \cdot n \cdot L = \frac{\dot{Q}}{U_{\text{sucio}} \cdot LMTD} \quad \text{Ec.(36)}$$

$$\% = 100 \cdot \left(\frac{U}{U_{\text{sucio}}} - 1 \right) \quad \text{Ec.(37)}$$

[22]

Con todas estas explicaciones se concluye que la elección que se ha tomado para este trabajo es la de utilizar un intercambiador de dos tubos concéntrico ya que los cálculos efectuados para el sistema son nimios en cuanto a la potencia que se requiere.

$$m' \cdot Cp \cdot \Delta T = Q' \quad \text{Ec.(38)}$$

$$10,42 \cdot 10^{-3} \frac{l}{s} \cdot \frac{1,18g}{l} \cdot \frac{1mol}{29g} \cdot 29,12 \frac{J}{K \cdot mol} \cdot 5K = 61,73 W \quad \text{Ec.(39)}$$

8.8 Aireación

El proceso de aireación es una parte muy importante de las fermentaciones aeróbicas, este se caracteriza por la transferencia de oxígeno entre la fase gas y la fase líquida.

El objetivo principal de la aireación es el de mantener una población activa, por eso el suministro de oxígeno debe ser continuo, para que este pueda transferirse de la fase gas a la fase líquida, donde el microorganismo puede utilizarlo.

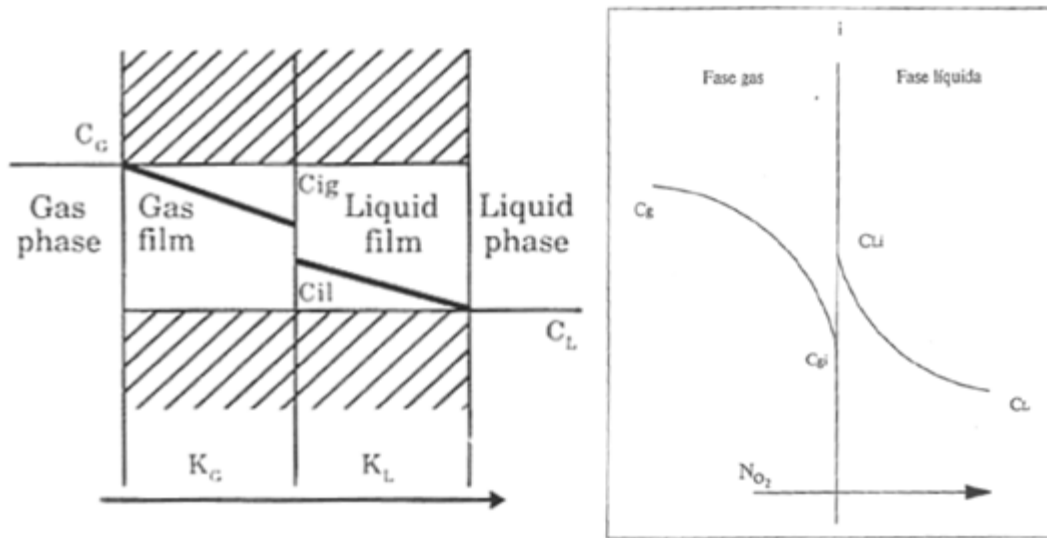


Figura 20 Transición de fase gas a fase líquida [20]

Se consigue una buena oxigenación con un flujo de 2vvm como se expone en los artículos expuestos anteriormente en el trabajo. Por el contrario, según la mayoría de estudios, con un flujo de 0,5vvm es más que suficiente para airear este tipo de fermentaciones. Por tanto, para poder calcular el caudal de gas que debe entrar se utilizara el dato de 1vvm junto con el volumen del reactor calculado anteriormente.

$$Q_g = 1 \frac{m^3 \text{ gas}}{m^3 \text{ ferm} \cdot \text{min}} \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot V_F$$

Ec.(40)

$$Q_g = 1 \text{ vvm} \cdot \frac{m^3 \text{ gas}}{m^3 \text{ ferm} \cdot \text{min}} \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot 0,625 \text{ m}^3 = 10,42 \cdot 10^{-3} \frac{m^3}{s}$$

Ec.(41)

$$Q_g = 10,42 \cdot 10^{-3} \frac{m^3}{s} = 627,41 \frac{l}{\text{min}}$$

Ec.(42)

8.9 Sistema de agitación

La agitación de un sistema viene definida por la relación entre la potencia consumida por este y sus variables de operación. La potencia absorbida durante la agitación del sistema puede interpretarse a partir de parámetros adimensionales como por ejemplo el número de potencia. El número de potencia nos permite describir el movimiento del fluido en el interior del tanque con la ayuda de otros parámetros adimensionales, entre ellos se podría considerar el número de Reynolds como el más relevante.[23]

En este caso se trabajara con un sistema aireado, por tanto, se introducirá aire en el medio líquido cosa que reduce de forma instantánea la potencia requerida para una buena agitación. Esto se debe, principalmente, a que los valores de viscosidad y densidad de la fase líquida se reducen con la presencia de las burbujas que se forman cuando se introduce el aire. Debido a la presencia de aireación aparece un parámetro denominado *hold up* que se define como el cociente entre el volumen de gas en el fermentador y el volumen total de este (líquido+gas)

$$\varepsilon_g = \frac{V_g}{V_g + V_l}$$

Ec.(43)

Donde:

ε_g : retención de la fase gas

V_g : volumen de gas en el fermentador

V_l : volumen de líquido en el fermentador

V_F : volumen del fermentador

Así pues, si se supone que el fluido es una dispersión de burbujas esta se comportara como un líquido con una densidad menor que la del propio líquido, la siguiente ecuación nos muestra como se establece esta relación.

$$\rho_g = \rho \cdot (1 - \varepsilon_g)$$

Ec.(44)

Entonces, teniendo en cuenta la formula anterior obtenemos la siguiente definición del número de potencia; distinta de la definición utilizada en modelos convencionales.

$$N_P = \frac{P_g}{\rho_g \cdot N^3 \cdot D^5}$$

Ec.(45)



$$Re = \frac{r \cdot D^2 \cdot N}{m}$$

Ec.(46)

Donde:

N_p : Número de potencia

Re : Nombre de Reynolds

P_g : Potencia absorbida por el sistema aireado

ρ_g : densidad aparente del líquido

N : velocidad de agitación

D : diámetro del impulsor

Con el fin de conseguir determinar las necesidades de potencia, en los sistemas aireados se define un parámetro adimensional denominado Número de aireación que nos indica el grado de dispersión de las burbujas entorno al impulsor.

$$N_a = \frac{Q_g}{N \cdot D^3}$$

Ec.(47)

Donde:

Q_g (m³/s): caudal de gas

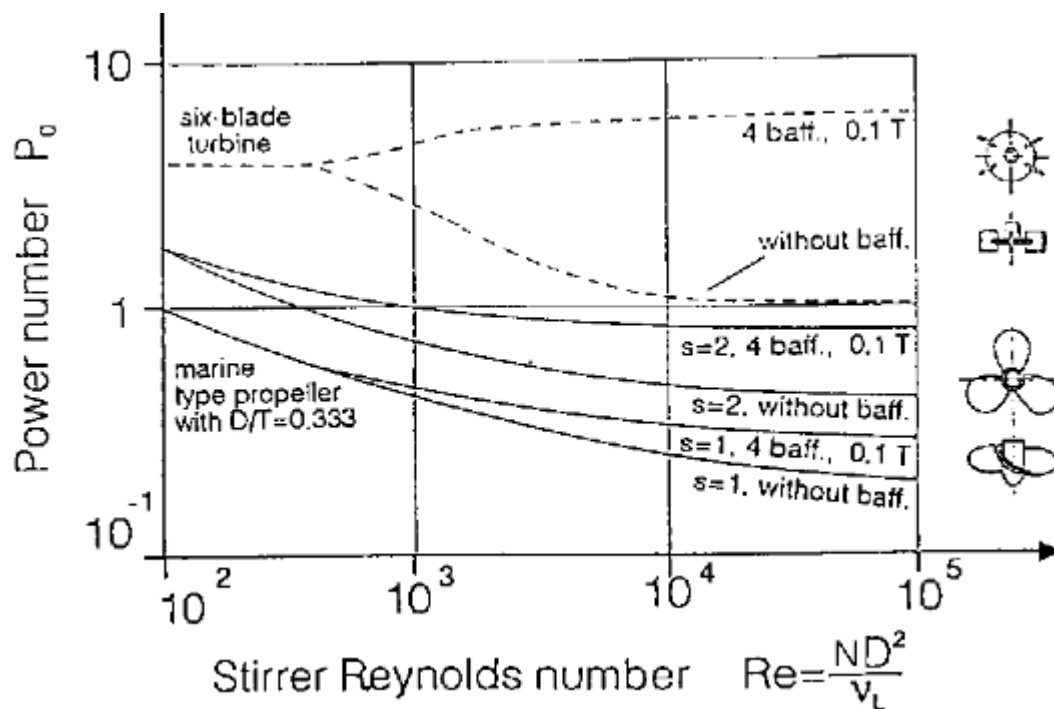


Figura 21 Número de potencia [21]

Haciendo las suposiciones lógicas de las condiciones de contorno de nuestro trabajo suponemos que se trabaja con un Reynolds turbulento y con las palas Rushton aunque de diseño propio. En función de estas hipótesis se obtiene un número de potencia de 5.

$$P_g = N_P \cdot \rho_g \cdot N^3 \cdot D^5$$

Ec.(48)

Y sustituyendo en la fórmula obtendremos la potencia necesaria que hay que suministrar al biorreactor.

$$P_g = 5 \cdot 1000 \cdot \left(\frac{400}{60}\right)^3 \left(\frac{0,80}{3}\right)^5 = 1997 \text{ W}$$

Ec.(49)

Se decide escoger un motor de 3 kW para cumplir los protocolos de seguridad de bajadas de tensión debidas a los rendimientos de este tipo de maquinaria en condiciones de trabajo y para prevenir posibles accidentes.

9. Diseño del fermentador

Se ha escogido un cultivo tratado en medio agitado ya que según la mayoría de estudios utilizados como base del trabajo se ha podido observar que este tipo de cultivo genera mejores resultados si no se produce un exceso de agitación.

Como ya se ha mencionado a lo largo de todo el trabajo, la especie seleccionada para la obtención de quitosán a partir de su fermentación será el *Mucor rouxii*; se tomó esta decisión porque a pesar de no ser la especie que genera mayor producto, es la especie que se ha trabajado más a fondo, a nivel de parámetros cinéticos, por la mayoría de investigadores que han tratado el tema.

Para realizar el diseño del biorreactor se ha utilizado un software libre llamado FreeCAD. Ha resultado ser todo un reto llegar a comprender como funcionaba el programa, a pesar del gran recopilatorio de tutoriales que se pueden hallar en internet. Había procesos muy costosos que no he tenido tiempo de aprender en la escasa duración del proyecto cosa que ha mermado un poco la calidad en cuanto a lo que los planos se refiere.

9.1 Partes esenciales del fermentador

9.1.1 *Cuerpo del reactor*

El reactor elegido es un reactor discontinuo de tanque agitado. Los datos para poder dimensionarlo han sido calculados en los apartados anteriores y su geometría es cilíndrica mayoritariamente.

En la tapa inferior se hallan 5 patas con sus correspondientes pies de apoyo.

El material utilizado para la fabricación de este reactor es el acero inoxidable A316L, muy conocido en el mundo de los reactores por las ventajas que ofrece; resistente a la corrosión, económico y de fácil limpieza.

9.1.2 *Entradas de alimentación*

En la tapa superior hay distintas entradas que se pueden utilizar para las funciones básicas como serían la colocación de sondas de temperatura, sensores de pH y demás aparatos que nos permitan controlar las condiciones de fermentación de nuestro cultivo. A parte de todo esto, la principal función de estas entradas es la de alimentar el reactor.

9.1.3 *Boca de salida*

En la tapa inferior se halla la boca que nos permite vaciar el reactor una vez se ha realizado todo el proceso de fermentación. Esta dispone de una válvula que nos permite graduar la apertura para regular el caudal.

En este caso, las válvulas escogidas tanto para la entrada como para la salida son válvulas de bola; su sencillo funcionamiento y su relación calidad-precio hacen de estas una gran elección.

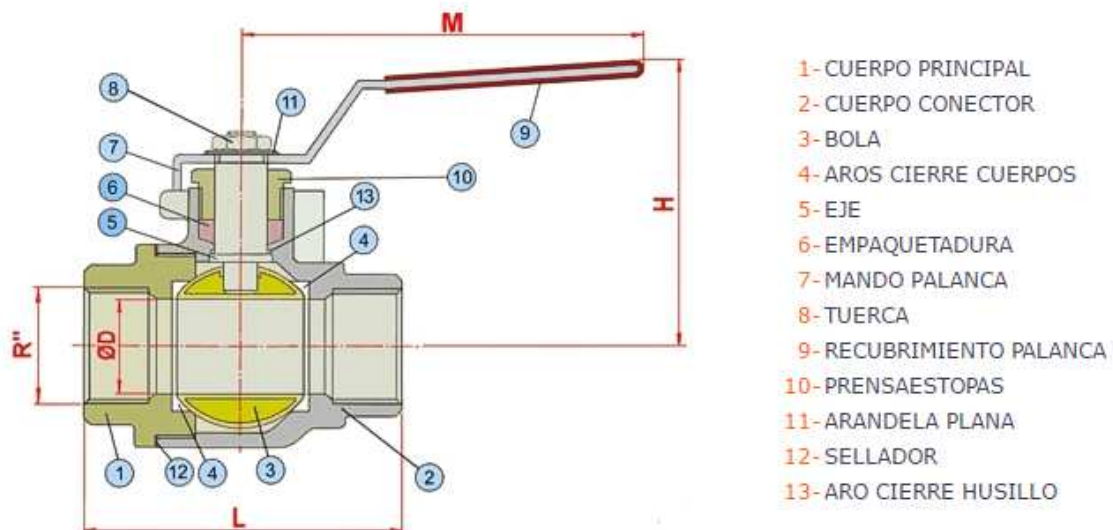


Figura 22 Esquema de una válvula de bola. [22]

9.1.4 Agitador y motor

Uno de los factores más relevantes en el diseño de un reactor es el método o sistema de agitación empleado ya que este es el encargado de conseguir que la mezcla sea completamente homogénea en todo el volumen.

En la figura siguiente se muestra el tipo de agitador que se ha diseñado; si se ha optado por esta elección se debe a que de esta forma, se conseguira un flujo más bien vertical que facilitará la homogeneidad de la mezcla, y no uno horizontal como se suele obtener utilizando los métodos convencionales de agitación a excepcion de los helicoidales.

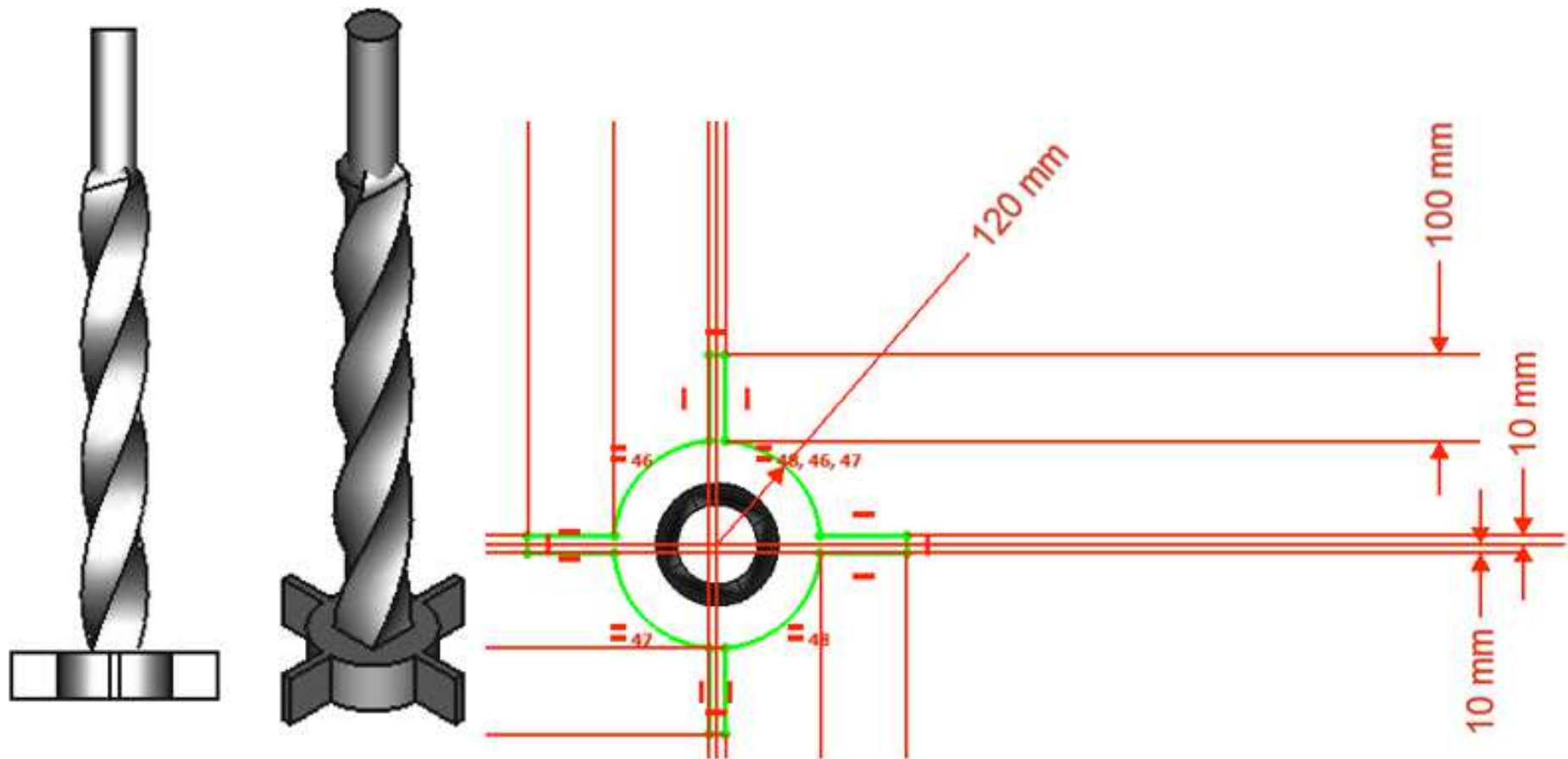


Figura 23 Vistas en perfil y alzado del sistema de agitación diseñado con su correspondiente croquis de diseño. [23]

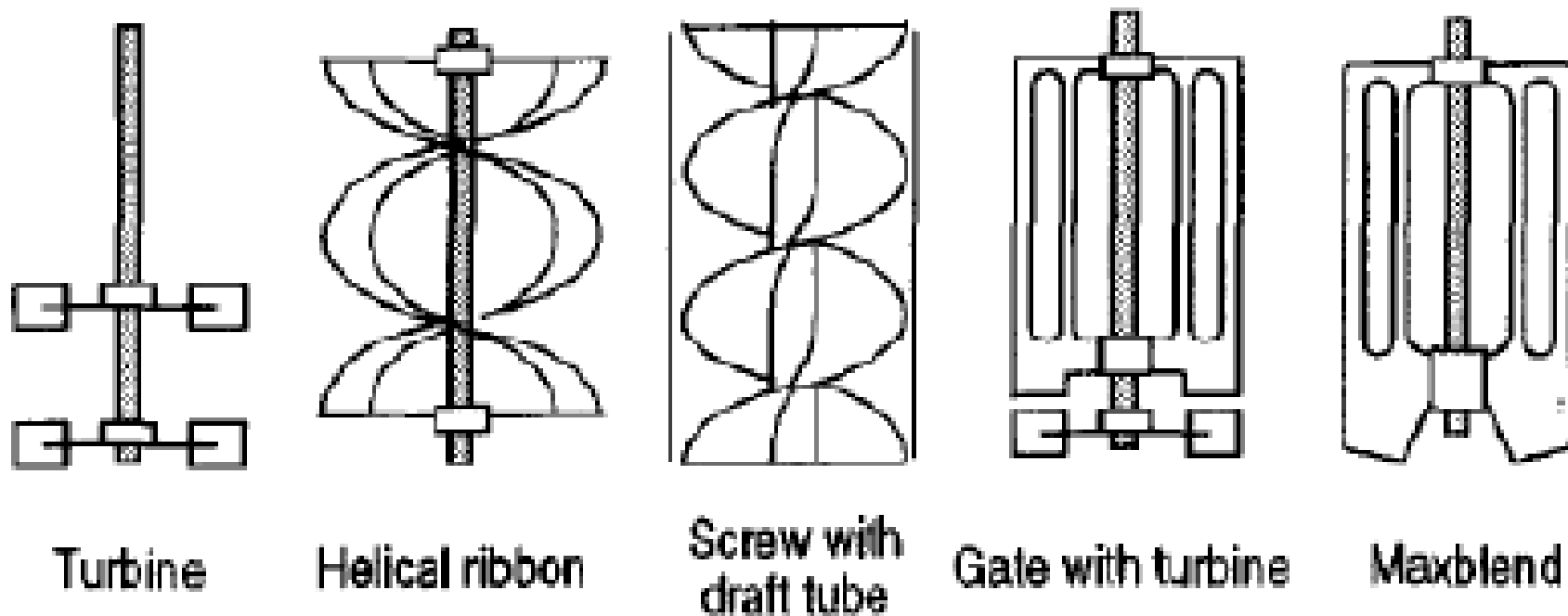


Figura 24 Tipos de palas de agitación [24]

En la imagen inmediatamente anterior se muestran los métodos convencionales de agitación. Se podría decir que el método diseñado sería una mezcla entre la hélice de turbina y la helicoidal.

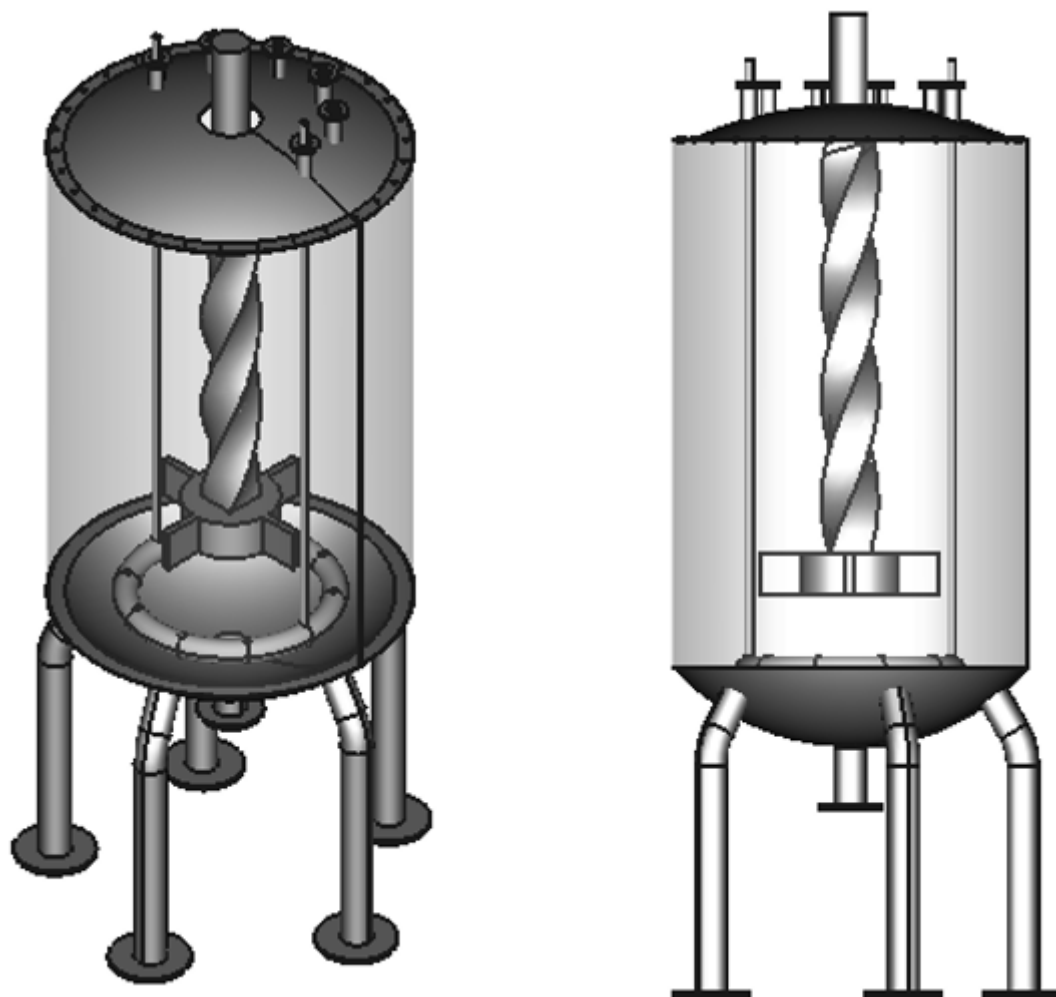


Figura 25 Vista de perfil y alzado del biorreactor diseñado

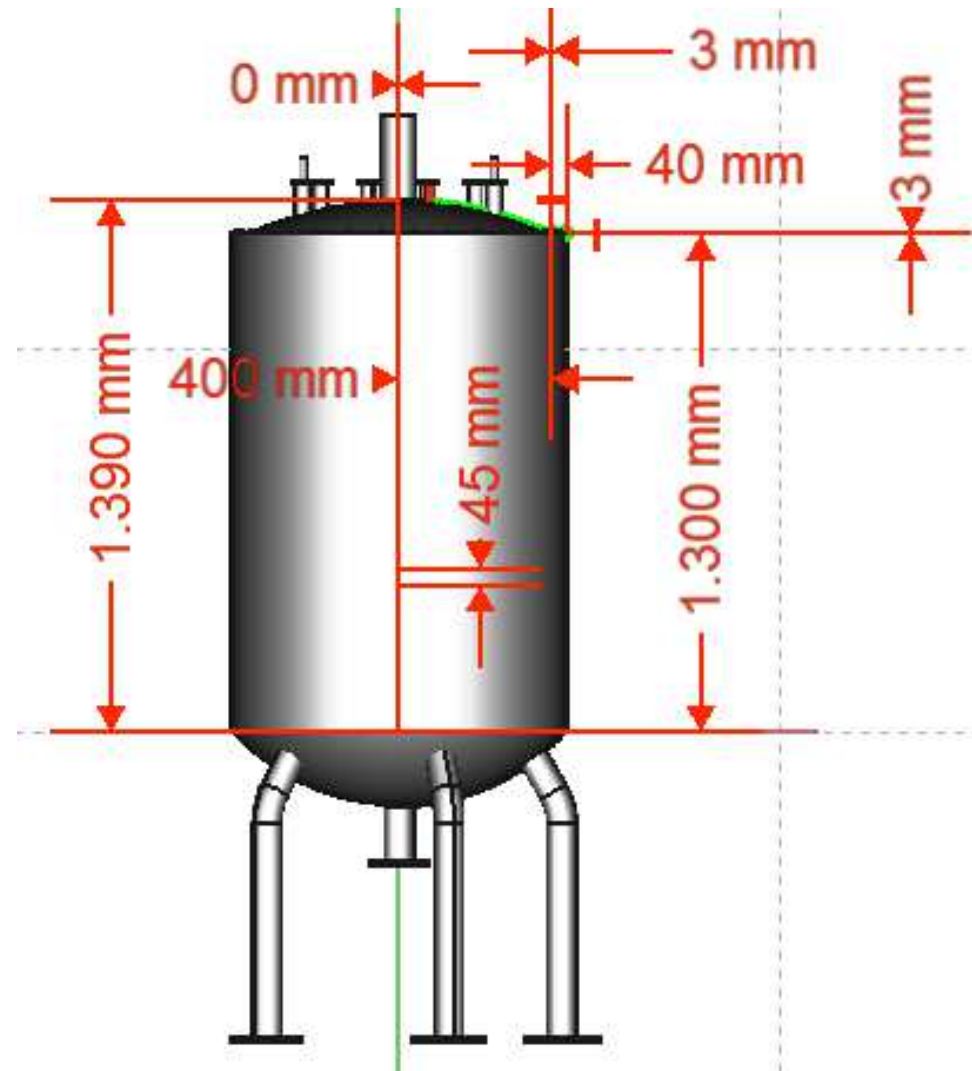


Figura 26 Croquis de la tapa superior en vista de perfil [25]

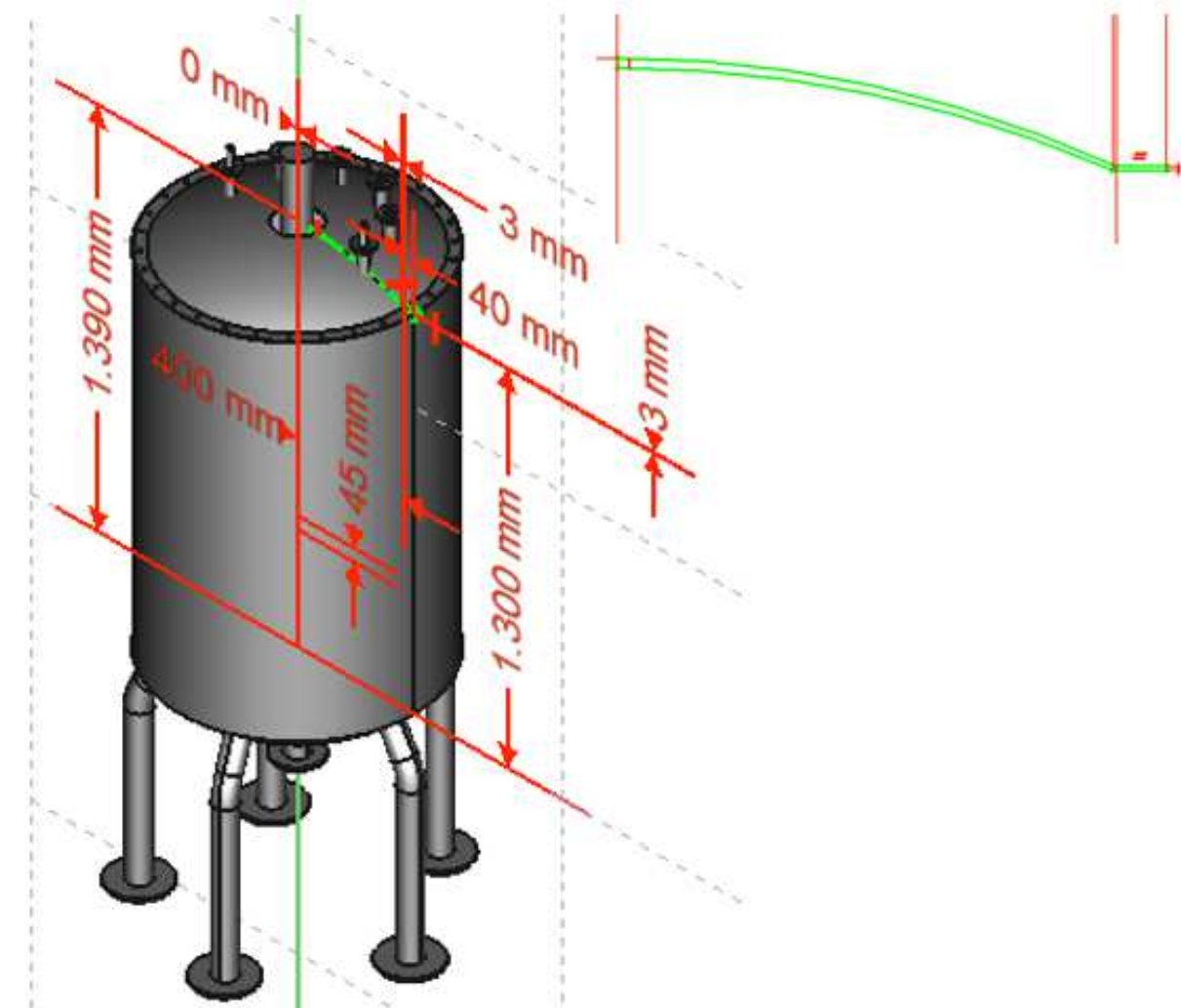


Figura 27 Croquis tapa superior en vista de alzado [26]

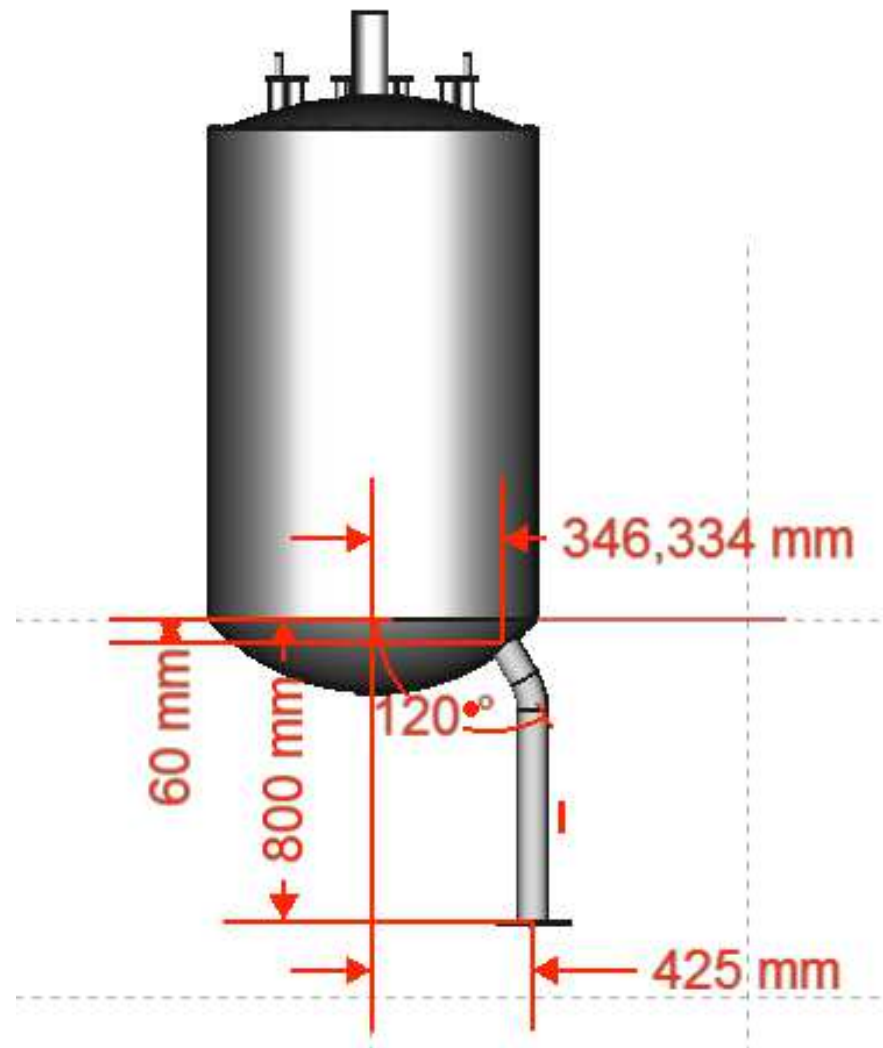


Figura 28 Croquis de una de las patas [27]

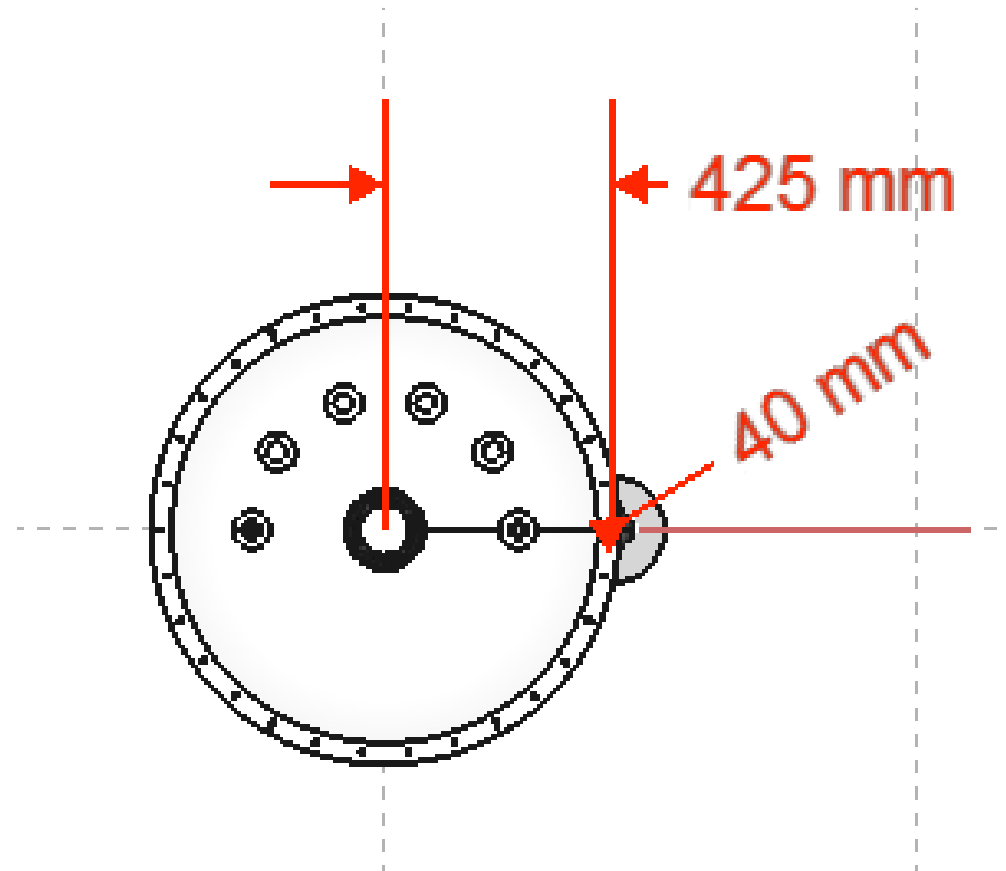


Figura 29 Croquis de una de las patas en vista de planta [28]

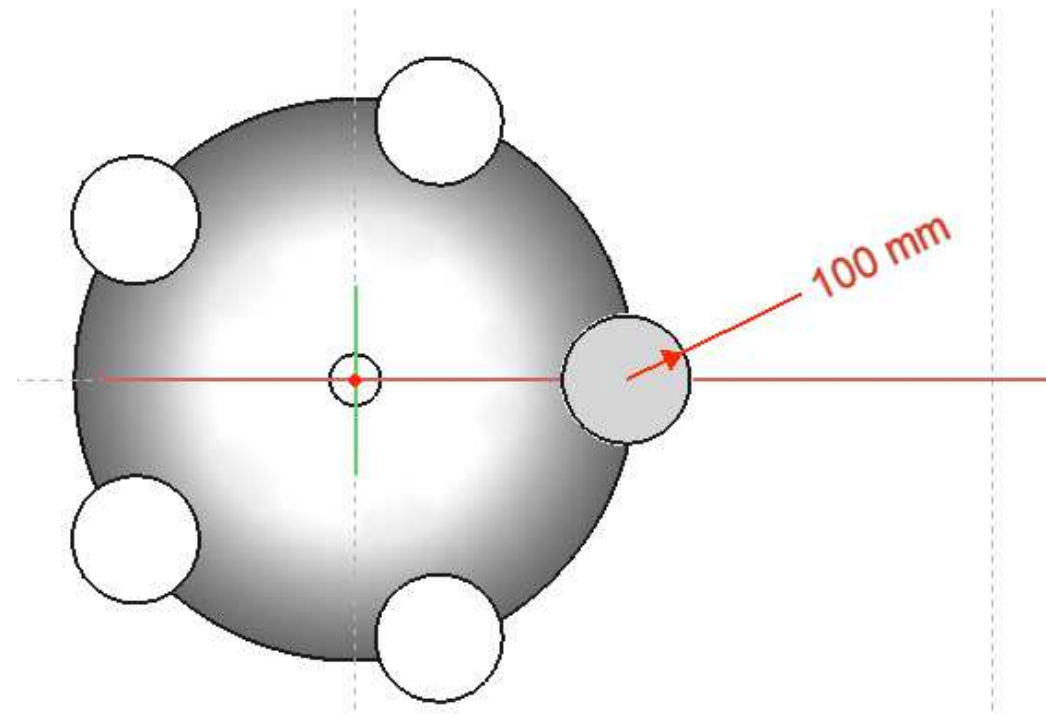


Figura 30 Croquis de la plataforma de las patas [29]

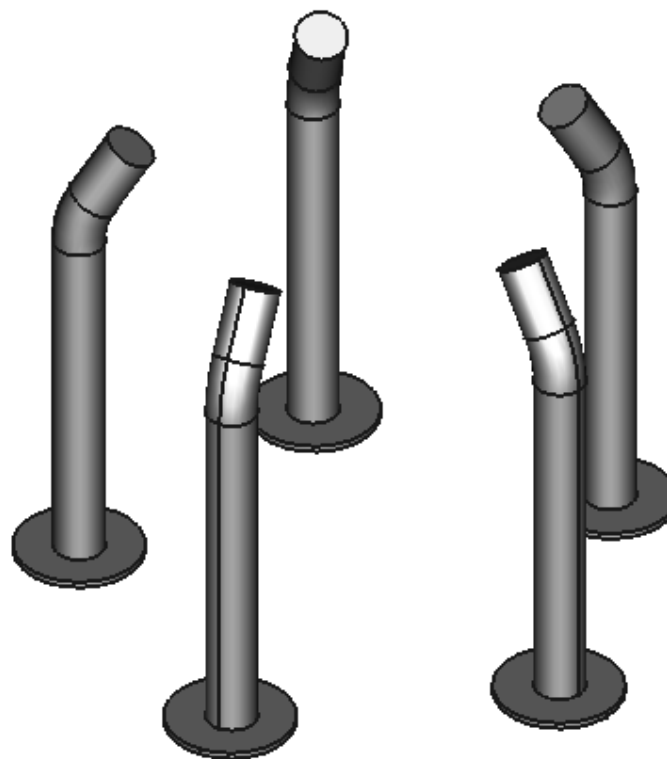


Figura 31 Patas del biorreactor en vista de alzado [30]

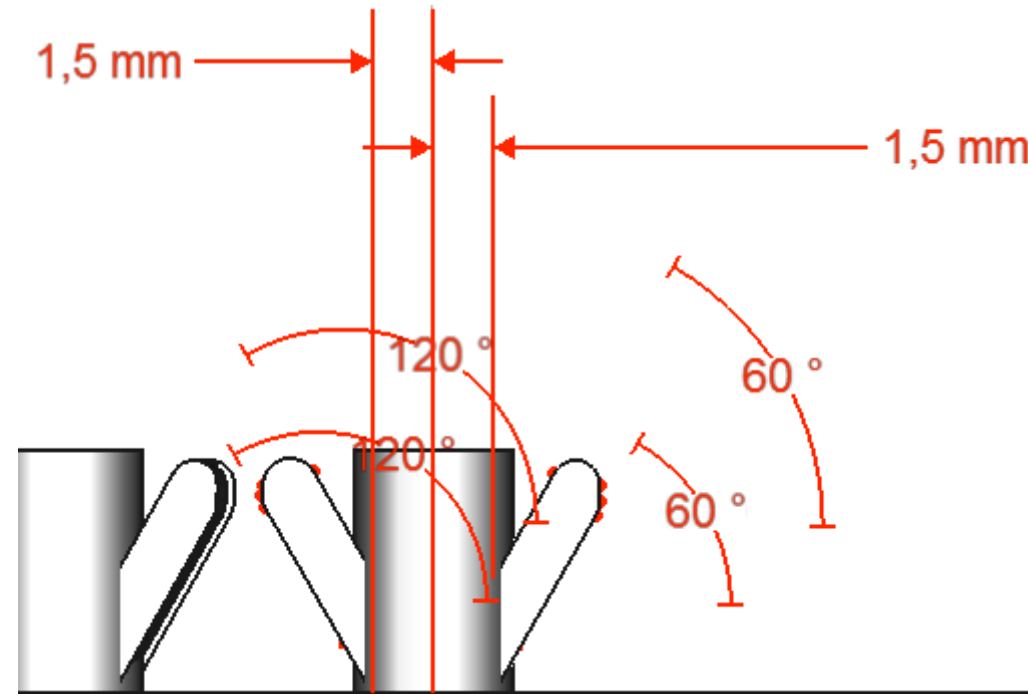


Figura 32 Croquis de las tuercas de la tapa superior [31]

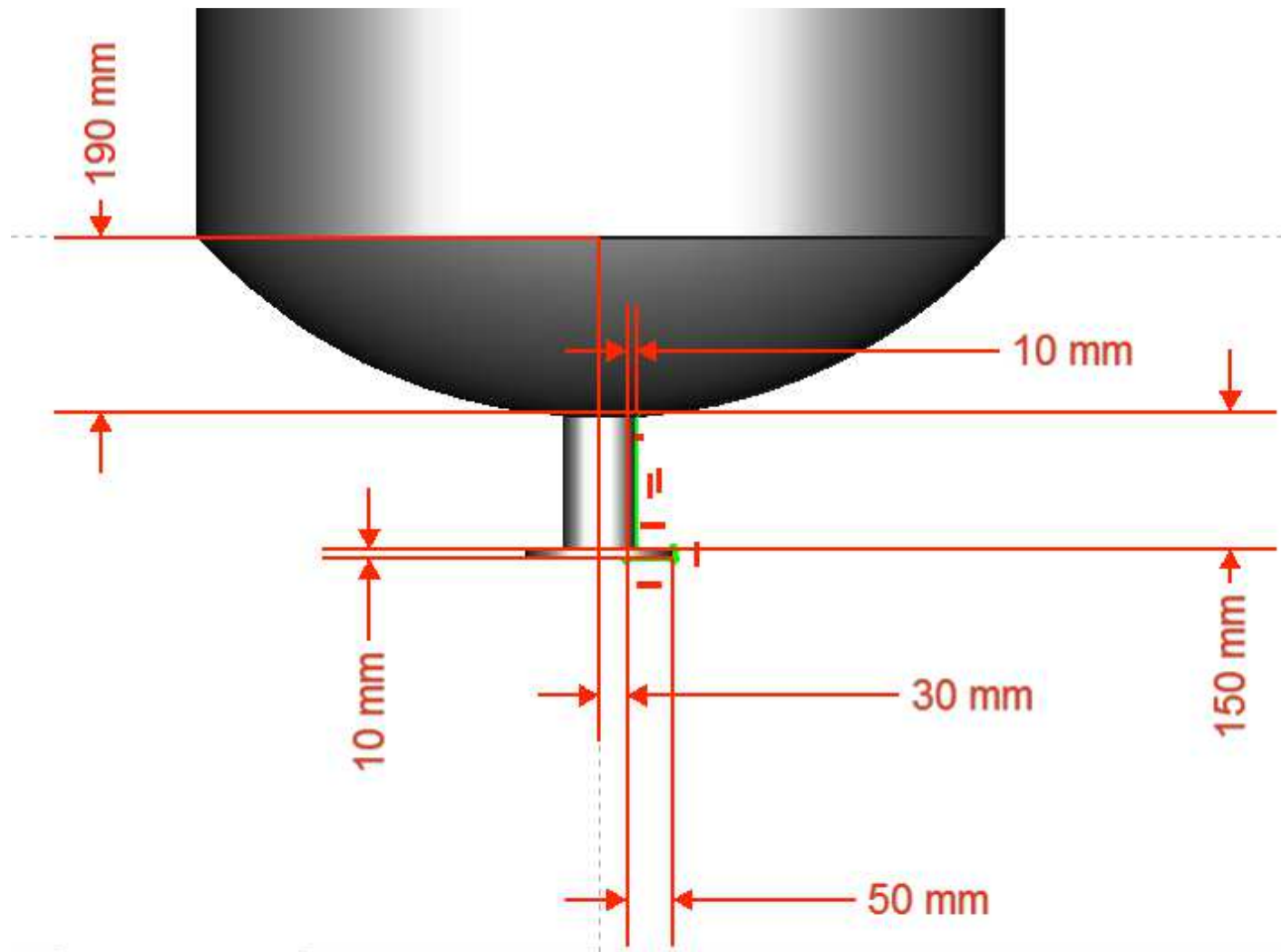


Figura 33 Croquis de la boca de salida [32]

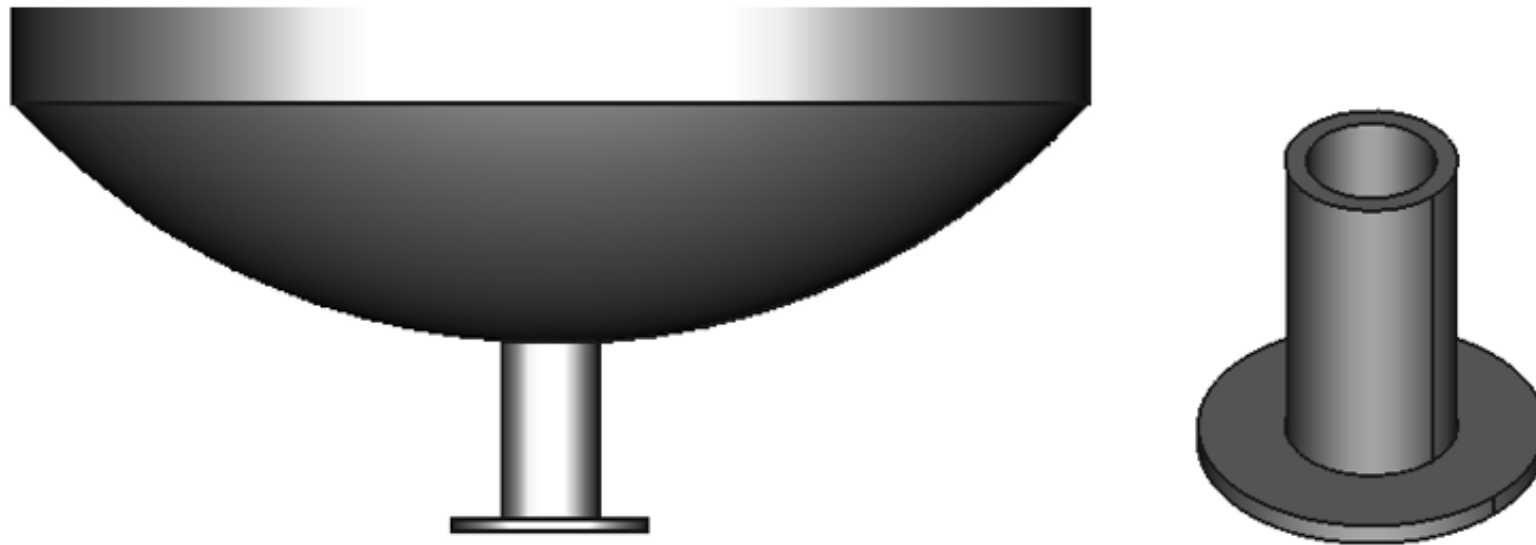


Figura 34 Vista de perfil de la tapa inferior y vista en alzado de la boca de salida

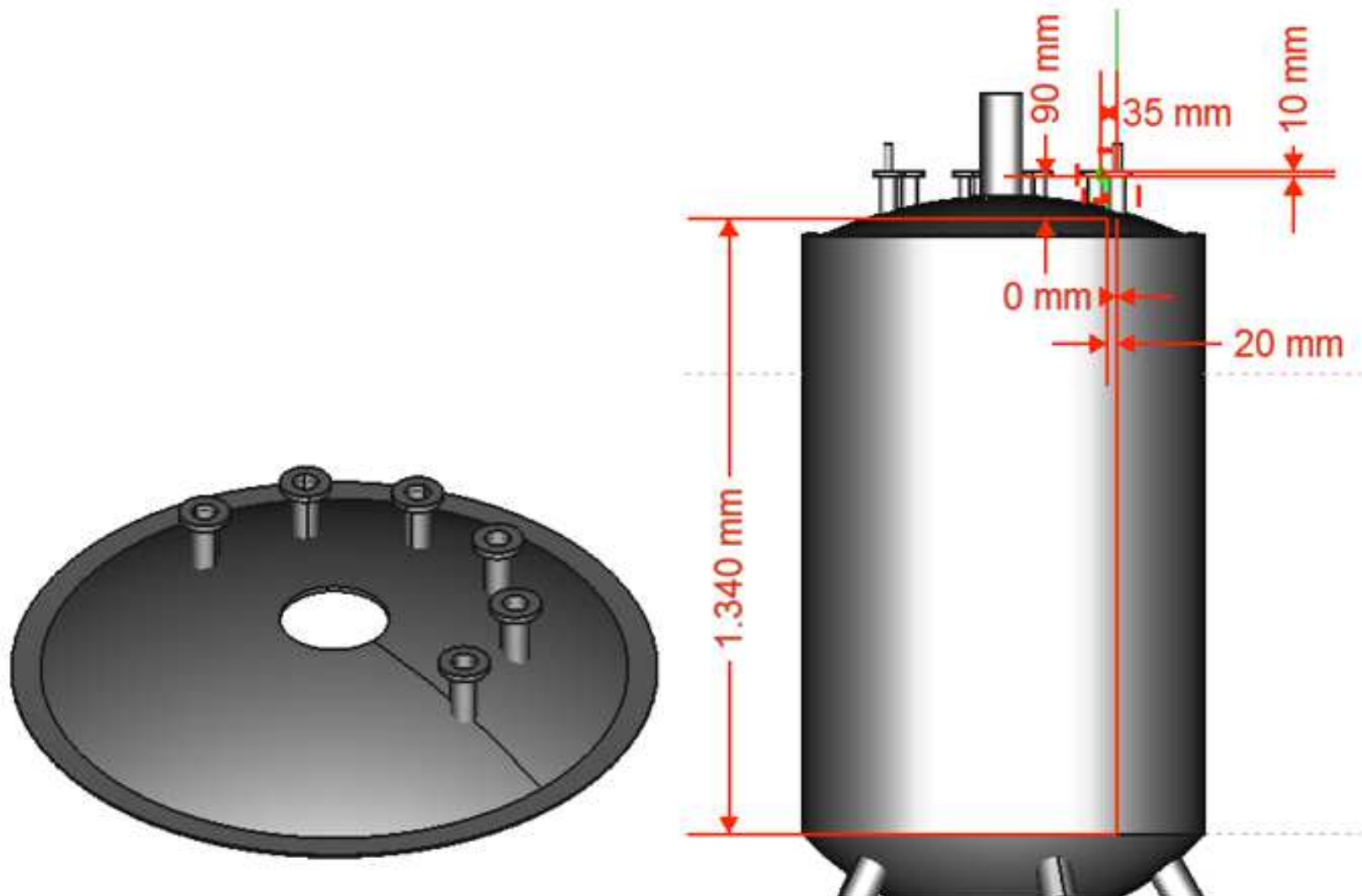


Figura 35 Croquis de las entradas de la tapa superior

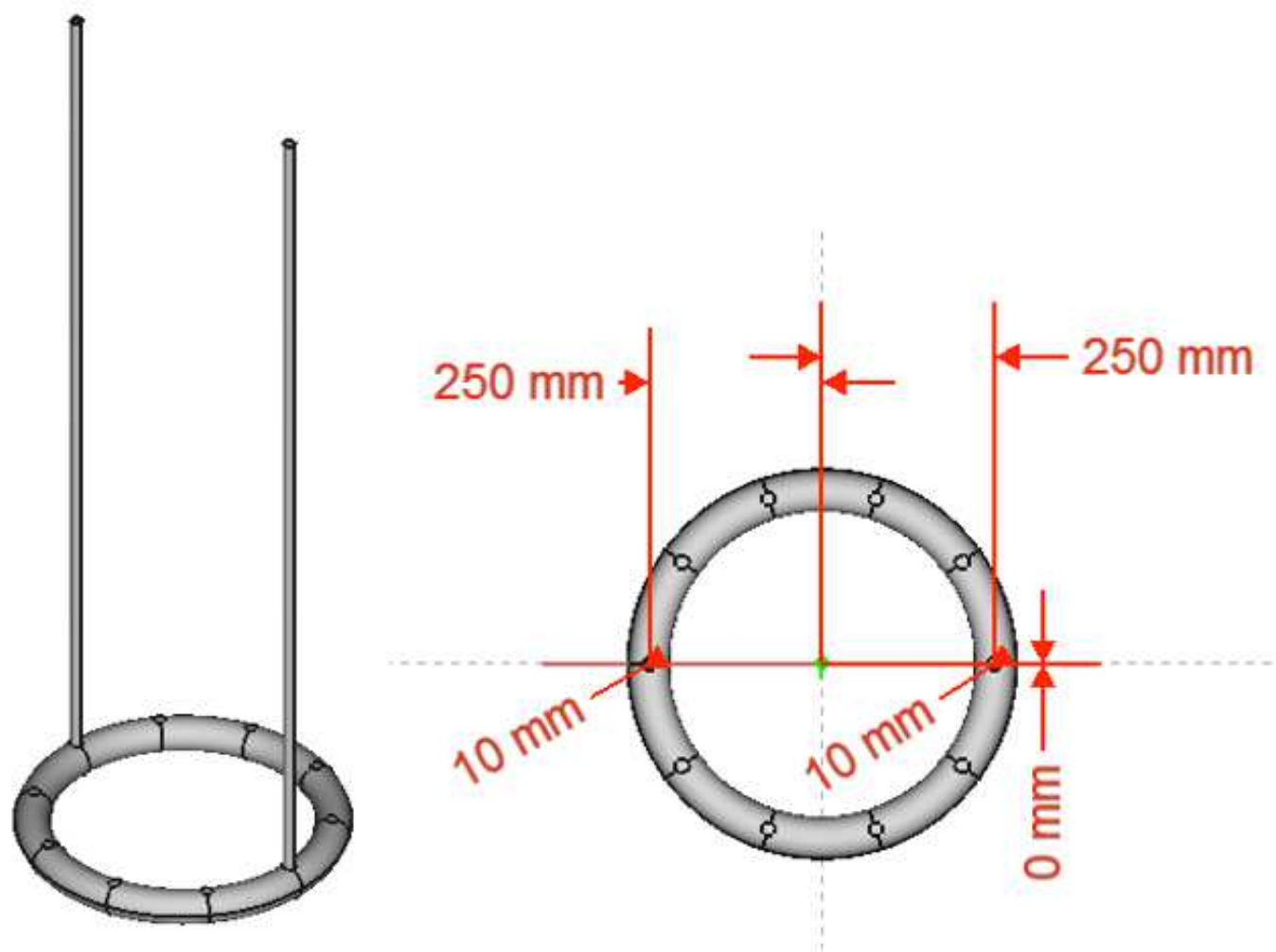


Figura 36 Vista en alzado y planta del sistema de aireación

10. Estudio económico

El estudio económico del proyecto es una de las partes de mayor relevancia de este, ya que nos permitirá saber si se trata de un proyecto rentable en función del presupuesto del que dispongamos.

En este estudio se incluye el cálculo del coste de todas las partes del equipo; se procurará detallar de forma específica el coste de todos y cada uno de los componentes. Además, se tendrá en cuenta el trabajo de ingeniería realizado y la mano de obra de los operarios que hayan mecanizado la estructura.

Los resultados obtenidos en este apartado se refieren a un diseño de dimensiones de planta piloto y por tanto, estos resultados no se corresponderían con otros de dimensiones dispares como podría ser un diseño de producción industrial o en cadena.

No se tendrán en cuenta los costes que deriven de la instalación del biorreactor ya que el trabajo solo contempla las fases de diseño y dimensionamiento de este.

Se introducirá un aumento del coste total del biorreactor de un 10% para poder asumir cualquier coste adicional que pudiera aparecer.

| | Componente | Precio | Unidades | Cantidad | Precio final (€) |
|------------------------|--|--------|----------|----------------------|------------------|
| Biorreactor | Cuerpo AC316L- 3mm espesor | 70,00 | €/kg | 90 kg | 6.000,00 |
| | Tapas AC316L- 3mm espesor | 70,00 | €/kg | 20 kg | 1.500,00 |
| Estructura | Patas AC316L- macizas | 70,00 | €/kg | 160 kg | 11.000,00 |
| Piezas de montaje | Tapón de rosca grande | 10,00 | €/u | 4 | 40,00 |
| | Tapón de rosca pequeña | 10,00 | €/u | 4 | 40,00 |
| | Válvula de bola | 95,00 | €/u | 2 | 190,00 |
| Otros sistemas | Motor 3kW | 800,00 | €/u | 1 | 800,00 |
| | Agitador Rushton | 140 | €/u | 1 | 140,00 |
| | Cilindro helicoidal de diseño propio | 200 | €/u | 1 | 200,00 |
| | Aireación | 250,00 | €/u | 1 | 250,00 |
| Sistemas de control | PH-metro | 130,00 | €/u | 1 | 130,00 |
| | Termómetro | 40,00 | €/u | 1 | 40,00 |
| | Resistencia eléctrica | 50,00 | €/u | 1 | 50,00 |
| Manipulación | Operarios | 35,00 | €/h | 1 semana | 2.000,00 |
| | Soldadura de la chapa | 50,00 | €/h | 2h | 100,00 |
| Costes adicionales | | | | + 10% coste total | 2.248 |
| COSTE TOTAL | | | | | 24.728 |

11. Seguridad

Las condiciones de seguridad, manipulación, etc deben abarcar tanto las normas habituales de conducta de una persona que trabaje en un entorno de estas características como las normas y protocolos necesarios en caso de riesgo o fallo de la maquinaria con tal de prevenir i reducir los accidentes que pudieran producirse.



Figura 37 Equipo de protección individual [33]

En la imagen anterior se muestran los equipos habituales de protección individual que deberían llevar todos y cada uno de los trabajadores que estén expuestos al entorno de trabajo mencionado, en este caso como se trata de un laboratorio de planta piloto no haría falta llevar cascos protectores como en la industria por ejemplo.

Por otro lado, el diseño de nuestro biorreactor tiene una altura considerable teniendo en cuenta que solamente sus patas ya miden 80 cm. Es por este motivo, que nos veremos obligados a utilizar algún tipo de superficie de soporte elevada para poder introducir la alimentación i controlar los distintos parámetros de operación. Así pues, será necesaria la presencia de otra persona durante estas operaciones y por descontado deberá extremarse la precaución.

Respecto a la limpieza, se recomienda el uso de agua caliente o vapor, para facilitar la limpieza de esquinas de difícil acceso se podrían utilizar ambos a presión. En todo momento se debe utilizar el equipo de protección expuesto en la fotografía anterior.

12. Estudio del impacto ambiental

Para realizar el estudio de impacto ambiental se ha decidido efectuar una evaluación de las emisiones que producirá el funcionamiento del biorreactor diseñado en cuestión y las emisiones de CO_2 que producirían los residuos de la operación realizada.

Primeramente se calcularán las emisiones del proceso;

Para realizar estos cálculos se tendrán en cuenta las emisiones generadas por el motor de agitación y la resistencia eléctrica. Las condiciones de trabajo establecidas son de 50 semanas anuales; 4 días a la semana 24h al día. Así pues, se trabajará un total de 4.800h con un motor de potencia 3000 W.

$$3kW \cdot 200 \text{ días} \cdot 24h = 14.400 kWh$$

Ec.(50)

Posteriormente se calculará el consumo de la resistencia, para ello se tendrá en cuenta la energía necesaria para conseguir el gradiente térmico deseado. En este caso, la temperatura inicial del ambiente se considera de 25 grados aproximadamente y se desea obtener una temperatura de operación de 30°C.

$$0,062kW \cdot 24h \cong 1,45kWh$$

Ec.(51)

$$1,45kWh \cdot 200 \text{ días} = 290 kWh \text{ anuales}$$

Ec.(52)

Se puede considerar despreciable, ya que el porcentaje que representa respecto del total es ínfimo, aproximadamente del 2%. Aun así se contabilizará para ser rigurosos.

Por tanto, se obtiene, según la Oficina Catalana del Cambio Climático, 302 g de CO_2 por cada kWh. En la siguiente ecuación se aprecia el cálculo de g de CO_2 equivalentes al consumo:

$$14690 kWh \cdot 302 \frac{g CO_2}{kWh} \cdot \frac{1 kg CO_2}{1000 g CO_2} = 4436,38 kg CO_2$$

Ec.(53)

13. Planning organizativo del trabajo

| | JULIO | | | | AGOSTO | | | | SETIEMBRE | | | | NOVIEMBRE | | | | DICIEMBRE | | | | ENERO | | | | FEBRERO | | | |
|---------------------------------------|-------|----|----|----|--------|----|----|----|-----------|----|----|----|-----------|----|----|----|-----------|----|----|----|-------|----|----|----|---------|----|----|----|
| | S1 | S2 | S3 | S4 | S1 | S2 | S3 | S4 | S1 | S2 | S3 | S4 | S1 | S2 | S3 | S4 | S1 | S2 | S3 | S4 | S1 | S2 | S3 | S4 | S1 | S2 | S3 | S4 |
| Investigación y documentación | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Introducción a la temática | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Viabilidad e interés del proyecto | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Definir la estructura del proyecto | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Artículos científicos y documentación | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Bases teóricas de cada apartado | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estudio de las opciones de diseño | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elección de componentes y materiales | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dimensionado | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Realización de los planos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estudio económico | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estudio de impacto ambiental | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Redacción del proyecto | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Revisión general | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Presentación oral del proyecto | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Conclusiones

Finalmente, este proyecto ha logrado cumplir con los objetivos que se habían planteado y se ha logrado el diseño de un biorreactor para la obtención de quitosán a partir de la especie *Mucor rouxii* a nivel de planta piloto.

El diseño se basa en un reactor discontinuo de tanque agitado que permite producir 1,6 g/l por cada semana de trabajo teniendo en cuenta que el tiempo de cada ciclo es de 24h y se trabajan 4 días semanales. Los datos se extraen del experimento del 2009 de Trutnau y sus colaboradores donde concluyen que se obtiene una concentración de aproximadamente 0,4 g/l por cada 24h.

Las células para inocular el cultivo crecen en la dextrosa de las patatas con unas condiciones de temperatura de 30°C durante un periodo de tiempo de 96h. Las suspensiones de esporas se preparan inundando el medio en agua destilada. Los nutrientes utilizados son: 40g de glucosa, 10g de peptona, 1g de extracto de levadura, 4.8g (NH₄)₂SO₄, 0.5g MgSO₄·7H₂O, 0.2g CaCl₂, 50ml de agua del grifo y 950ml de agua destilada.

La mezcla en el reactor se encuentra a 30°C, esta temperatura se consigue con un intercambiador de dos tubos concéntrico donde entra un aire calentado previamente. Además la mezcla debe estar aproximadamente a un pH=4,5 y una aireación de 1vvm que se consigue a través de un anillo perforado que se alimenta con un caudal de $10,42 \cdot 10^{-3} \frac{m^3}{s}$. El reactor está dimensionado para un volumen real de 800 L que se corresponde con un volumen de sustrato de 625 L. Con los cálculos efectuados en el proyecto se obtiene un diámetro del tanque de 88 cm y una altura de 130 cm.

Durante el proceso no hay un nivel de riesgos muy elevado; se podría comparar a la seguridad que debe haber en un laboratorio debido a los productos químicos que pueda haber, como por ejemplo reactivos ácidos o básicos.

El coste final del proyecto es de 24.728 € y las emisiones de CO₂ a las que equivale el consumo energético producido por el proceso son de 4436,38 kg CO₂.

Por tanto, se puede concluir que se ha logrado diseñar un biorreactor para la obtención de quitosán que respeta el medioambiente.

Se debe tener en cuenta que todos los resultados expuestos son meramente cálculos ya que no se ha realizado ningún estudio experimental.

Agradecimientos

Sencillamente, agradecer a mi tutor Jordi Bou todo el apoyo y la atención que me ha prestado, ya no solo a nivel personal sino también moral e intelectual.

Bibliografía conceptual

[1] Francisco García Calvo-Flores y José A. Dobado (2008) “*Química Sostenible: una alternativa creíble*”, Anales de Química, 205.

[2] http://www.suschem-es.org/docum/pb/roadmap_suschem_mar13_es.pdf

Fecha de visita: 27/09/2016

[3] Bhima Vijayendran (2010) “Bio products from bio refineries – trends, challenges and opportunities”. *Journal of Bussiness Chemistry* 7 (3).

[4] Alberts, B. et al. (1996). *Biología Molecular de la célula*. Omega

[5] Asimov, I. (1986). *Introducción a la Ciencia: Ciencias Biológicas*. Orbis

[6] Aghdam, M.G. (2010). Extraction of chitosan from fungal cell wall by sulfuric acid studying the effect of deacetylation degree and temperature on recovery chitosan. Master thesis. University Boras. School of Engineering.

[7] Kannan, M., Nesakumari, M. and Ranjit Singh A.J.A. (2010). Production and characterization of mushroom chitosan under solid- state fermentation conditions. *Advances in Biological Research* 4: 10-13.

[8] Roberts, G.A. (2008). Thirty Years of Progress in Chitin and Chitosan. Progress on chemistry and application of chitin. Volumen XIII.

[9] Nadarajah, K. et al. (2001) Production of chitosan by fungi. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4:263-265

[10] Streit, F. et al. (2009) Production of fungal chitosan in liquid cultivation using apple pomace as substrate. *Brazilian Journal of Microbiology* 40: 20-25

[11] White, S. A., Farina, P. R., & Fulton, I. (1979). Production and isolation of chitosan from *Mucor rouxii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 38(2), 323-328.

[12] Chatterjee, S. et al. (2006) Kinetics of *Mucor rouxii* Fermentation in Relation to Chitosan Production. *Research Journal of Microbiology*. 1: 90-94

[13] Trutnau, M., Suckale, N., Groeger, G., Bley, T., & Ondruschka, J. (2009). Enhanced chitosan production and modeling hyphal growth of *Mucor rouxii* interpreting the dependence of chitosan yields on processing and cultivation time. *Engineering in Life Sciences*, 9(6), 437-443.

[14] Chatterjee, S. et al. (2009) Influence of plant growth hormones on the growth of *Mucor rouxii* and chitosan production. *Microbiological Research* 164: 347-351

[15] <http://lmidarraga.blogspot.com.es/2010/10/caracteristicas-de-los-reactores.html>

Fecha de visita: 27/09/2016

[16] http://www.galeon.com/mcoronado/PRACTICAS_I/13Practica13.pdf

Fecha de visita: 18/10/2016



[17] Fogler H. Scott, (2008) Elementos de ingeniería de las reacciones químicas, *Pearson Prentice hall*, 4ª edición.

[18] Madigan Michael T. et al. (2004) Biología de los Microorganismos, *Pearson*, 30-31.

[19] http://aulavirtual.tecnologicocomfenalcovirtual.edu.co/aulavirtual/pluginfile.php/484784/mod_label/intro/6_BIORREACTORES.pdf

Fecha de visita: 01/09/2016

[21] Trutnau, M., Suckale, N., Groeger, G., Bley, T., & Ondruschka, J. (2009). Enhanced chitosan production and modeling hyphal growth of *Mucor rouxii* interpreting the dependence of chitosan yields on processing and cultivation time. *Engineering in Life Sciences*, 9(6), 437-443.

[22] <http://www.sacome.com/documentacion-tecnica-technical-documentation/calculo-termico-thermal-calculation/>

Fecha de visita: 18/10/2016

[23] McCabe Warren, Smith Julian C., Harriott Peter, (1991) Operaciones unitarias en Ingeniería química 4ª ed. *McGraw-Hill*, 1111p.

[24] G. Zhou, L. Shi, P. Yu (2003) CFD Study of Mixing Process in Rushton Turbine Stirred Tanks. *Third International Conference on CFD in the Minerals and Process Industries*

Bibliografía de imágenes

[1]https://investigadoraenapuros.wordpress.com/2011/03/03/biotecnologia_para_la_quimica
fecha de visita: 27/09/2016

[2] https://www.ecured.cu/Archivo:Estructura_celulosa.png

Fecha visita: 27/09/2016

[3]http://recursos.cnice.mec.es/biologia/bachillerato/segundo/biologia/ud07/02_07_04_02_043.html

Fecha visita: 27/09/2016

[4] <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%205/AQM5quitosan.html>

Fecha visita: 27/09/2016

[5] imagen realizada por el autor

[6] imagen realizada por el autor

[7] <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00807945/document>

Fecha visita: 27/09/2016

[9] <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elsc.200900012/full>

Fecha visita: 27/09/2016

[10] <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elsc.200900012/full>

Fecha visita: 27/09/2016

[11] <http://apuntesbiotecnologiageneral.blogspot.com.es/2015/04/biofabricas-y-biorreactores.html>

Fecha visita: 01/09/2016

[12] <http://www.intechopen.com/books/biomass-now-sustainable-growth-and-use/continuous-agave-juice-fermentation-for-producing-bioethanol>

Fecha visita: 01/09/2016

[13]http://aulavirtual.tecnologicocomfenalcovirtual.edu.co/aulavirtual/pluginfile.php/484784/mod_label/intro/6_BIORREACTORES.pdf

Fecha visita: 01/09/2016

[14]http://aulavirtual.tecnologicocomfenalcovirtual.edu.co/aulavirtual/pluginfile.php/484784/mod_label/intro/6_BIORREACTORES.pdf

Fecha visita: 01/09/2016

[15] <http://www.lasendanatural.com/blog/area-de-microbiologia/181-introduccion-a-la-microbiologia-1-parte>

Fecha visita: 01/09/2016

[17] <http://www.sacome.com/documentacion-tecnica-technical-documentation/calculo-termico-thermal-calculation/>

Fecha visita: 18/10/2016

[18] <http://www.sacome.com/documentacion-tecnica-technical-documentation/calculo-termico-thermal-calculation/>

Fecha visita: 18/10/2016

[19] <http://www.sacome.com/documentacion-tecnica-technical-documentation/calculo-termico-thermal-calculation/>

Fecha visita: 18/10/2016

[20] Apuntes de la asignatura de cinética y reactores

[21] http://sites.poli.usp.br/p/luiz.terron/agitacao_de_liquidos/textos_on_line/8_cristalizacao/6_cristalizacao_projeto.htm

Fecha visita: 18/10/2016

[22] <http://www.bombasborja.com/fig-61.html>

Fecha visita: 18/10/2016

[23] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[24] Apuntes de la asignatura de operaciones básicas

[25] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[26] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[27] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[28] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[29] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[30] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[31] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[32] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[33] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

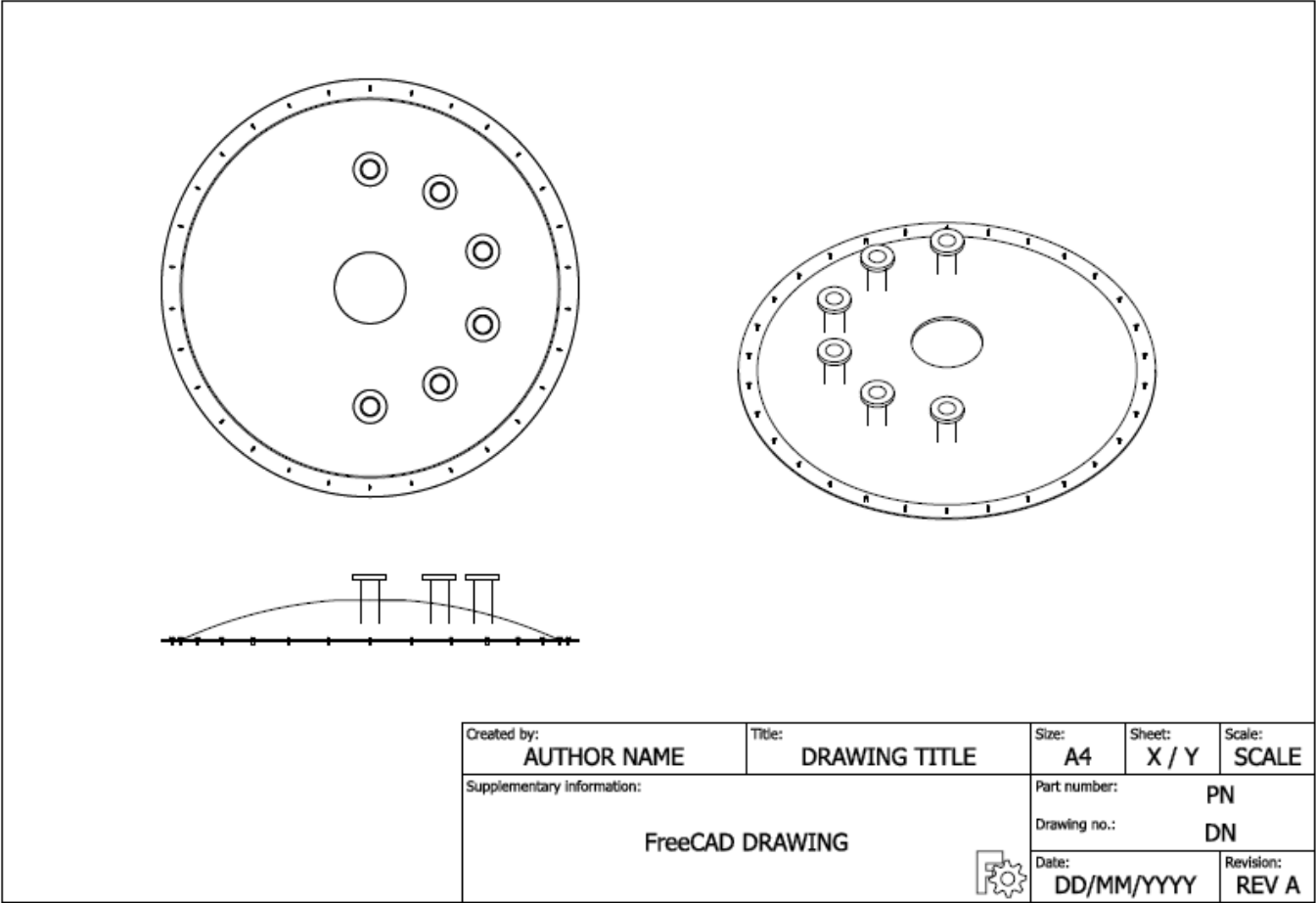
[34] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

[35] Captura de pantalla del programa de diseño FreeCad

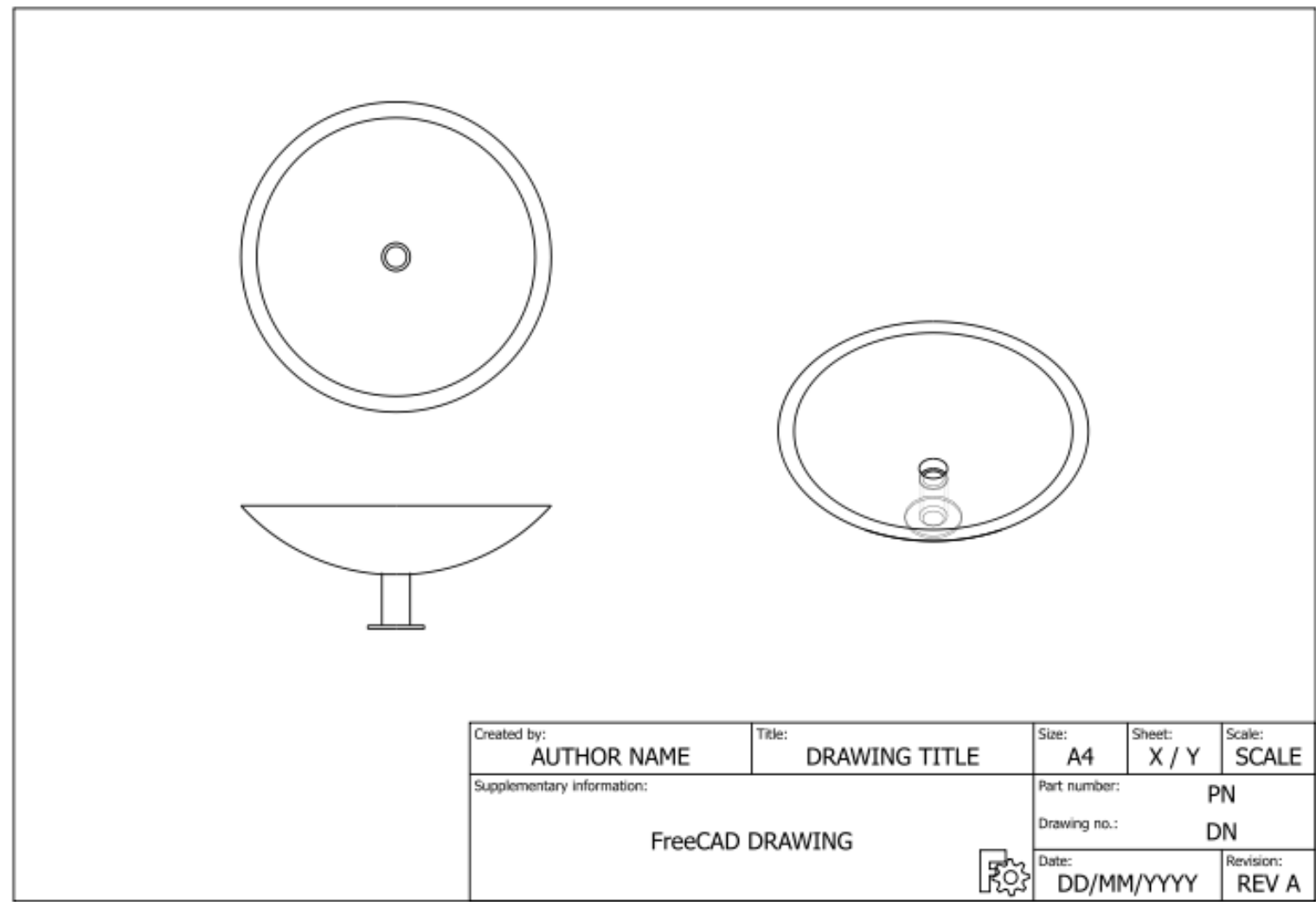
[36] Laia Tort Agel, Disseny d' un bioreactor per a la producció de la cel·lulosa bacteriana TFG,UPC,2016

Anejos

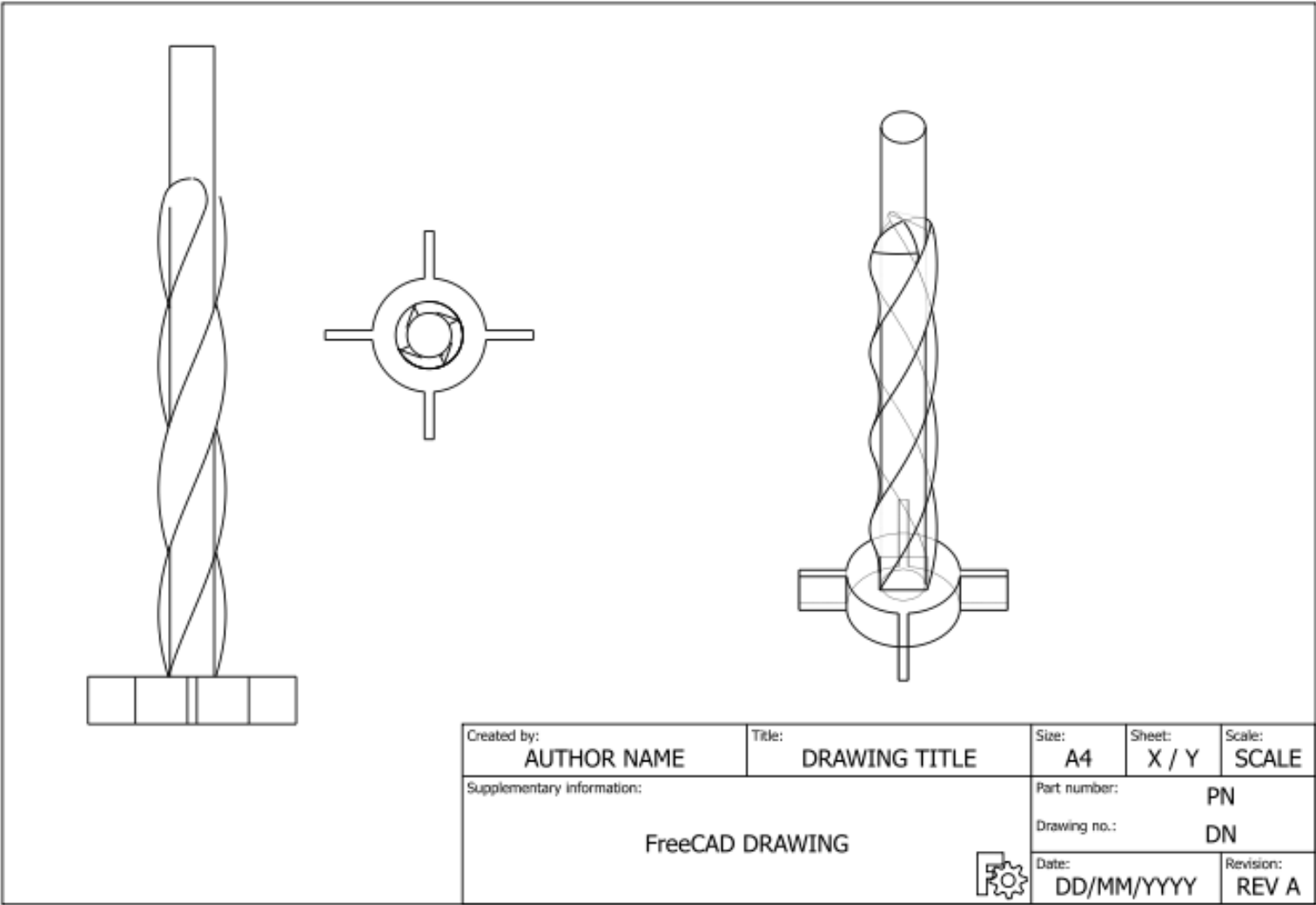
Tapa superior



Tapa inferior



Sistema de agitación



Conjunto del reactor

